

**HUBUNGAN KADAR MALONDIALDEHID PLASMA
DENGAN KELUARAN KLINIS
STROKE ISKEMIK AKUT**

**CORRELATION OF PLASMA MALONDYALDEHYDE WITH
CLINICAL OUTCOME OF ACUTE ISCHEMIC STROKE**



Tesis

**Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat sarjana S-2
dan memperoleh keahlian dalam bidang ilmu penyakit saraf**

Susilo Siswonoto

**PROGRAM PASCA SARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU PENYAKIT SARAF
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2008**

TESIS**HUBUNGAN KADAR MALONDIALDEHID PLASMA DENGAN
KELUARAN KLINIS STROKE ISKEMIK AKUT**

disusun oleh

Susilo Siswonoto

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 5 juni 2008
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing :

Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua

dr.Endang Kustiowati, Sp.S(K)
NIP : 140 161 149

Prof.dr.Lisyani Suromo, Sp.PK(K)
NIP : 130 354 869

Ketua Program Studi
Ilmu Penyakit Saraf
Fakultas Kedokteran UNDIP

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana UNDIP

dr.Endang Kustiowati, Sp.S(K)
NIP : 140 161 149

Prof.Dr.H.Soebowo, Sp.PA(K)
NIP : 130 352 549

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, April 2008

Susilo Siswonoto

RIWAYAT HIDUP

IDENTITAS

Nama : dr. Susilo Siswonoto
 Tempat dan tanggal lahir : Malang / 3 mei 1967
 Agama : Islam
 Alamat : Jl. Rasamala barat I No.167, Banyumanik, Semarang
 Status : Menikah

RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SD Bhayangkari, Malang : Lulus tahun 1980
2. SMP Negeri 1, Malang : Lulus tahun 1983
3. SMA Negeri 3, Malang : Lulus tahun 1986
4. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya : Lulus tahun 1993
5. PPDS I Ilmu Penyakit Saraf FK UNDIP : 2003 – sekarang

RIWAYAT PEKERJAAN

1. Dokter PTT di Puskemas muara Wahau, Kabupaten Kutai, Kalimantan Timur : tahun 1994 – 1997.
2. PNS di Dinas Kesehatan Kota Bontang, Kota Bontang, Kalimantan Timur : tahun 1997 – sekarang.

RIWAYAT KELUARGA

Nama Istri : Eni Supini
 Nama anak : 1. Annisa Fitriani
 2. Karina Rahma Aulia
 3. Nabila Nurhasanah

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas segala limpahan rahmat dan karunianya, sehingga penulis mendapatkan hikmah pengetahuan dalam menyelesaikan karya akhir ini, yang berjudul "Hubungan kadar malondialdehid plasma dengan keluaran klinis stroke iskemik akut".

Karya akhir ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Biomedik – Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Penyakit Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setulus-tulusnya kepada guru-guru saya atas segala bantuan dan bimbingannya, selama menempuh pendidikan ini.

Pertama-tama penulis menghaturkan rasa terimakasih kepada yang terhormat Prof. Ir. Eko Budiharjo, Msc selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang (2003 – 2006) dan Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, Sp. And selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang saat ini dan kepada yang terhormat Prof Dr. H. Soebowo, Sp.PA(K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik beserta jajarannya yang telah memberi ijin bagi penulis untuk menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Penyakit Saraf dan Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.

Kepada yang terhormat Prof. Dr. Kabulrahman, SpKK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang (2003 – 2006) dan dr Soejoto, PAK, SpKK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro saat ini, Dr.H. Gatot Subroto,M. Kes,MMR selaku direktur RSUP Dr. Kariadi (2000 – 2006), Bapak Direktur RSUP Dr. Kariadi saat ini dr. Budi Riyanto SpPD-KTI, Msc yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh Program

Pendidikan Dokter Spesialis I dan Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Kepada yang terhormat Bapak Dr. M.Noerjanto Sp.S(K) dan Bapak Prof. Dr.dr. Bambang Hartono, SpS(K) (Alm) selaku Kepala Bagian / SMF Ilmu Penyakit Saraf FK UNDIP / RSUP Dr.Kariadi Semarang sebelum periode tahun 2005 yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti pendidikan spesialisasi dan telah memberikan banyak bimbingan dan nasehat kepada penulis selama menempuh pendidikan. Dan kepada Bapak dr. M.H. Naharuddin Jenie, SpS(K) selaku Ketua Bagian / SMF Ilmu Penyakit Saraf FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang saat ini yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Saraf I di Bagian Ilmu Penyakit saraf dan senantiasa memberikan nasehat, bimbingan dan dukungan moril selama ini.

Kepada yang terhormat Ibu dr.Endang Kustiowati, Sp.S(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Saraf FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan kesempatan, nasehat dan bimbingan selama mengikuti pendidikan spesialisasi dan sekaligus sebagai pembimbing karya akhir penulis atas petunjuk, bimbingan, kesabaran, pengertian dan waktu yang telah diberikan selama proses penyusunan karya akhir penulis hingga selesai.

Kepada yang terhormat Bapak dr.Dodik Tugasworo, Sp.S(K) selaku Sekretaris Bagian / SMF Ilmu Penyakit Saraf FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan bimbingan dan nasehat selama mengikuti pendidikan spesialisasi, termasuk bimbingan karya akhir penulis.

Kepada yang terhormat Ibu dr. Dani Rahmawati, Sp.S selaku Sekretaris Program Studi Ilmu Penyakit Saraf yang telah memberikan bimbingan dan nasehat selama menempuh pendidikan spesialisasi.

Kepada yang terhormat Ibu Prof. Dr. Lisyani Suromo, Sp.PK(K) selaku pembimbing karya akhir penulis atas petunjuk, bimbingan, kesabaran serta waktunya sehingga karya akhir ini dapat diselesaikan.

Kepada yang terhormat Bapak dan Ibu guru saya, Dr Soedomo Hadinoto, Sp.S(K) (Alm), dr. Setiawan, Sp.S(K), dr RB Wirawan, Sp.S(K), Prof. dr. MI. Widiastuti Samekto, PAK, SpS(K), MSc, Prof.Dr.Amin Husni, SpS(K), PAK, MSc, dr. Soetejo, Sp.S(K), dr. Aris Catur Bintoro, SpS, dr. Retnaningsih, Sp.S, KIC, dr. Hexanto Muhartomo, Sp.S, M.Kes, dr. Jimmy Eko Budi Hartono, Sp.S, dr. Trianggoro Budisulistyo, Sp.S, dr.Dwi Pudjanarko Sp.S, M.Kes yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan ilmu selama penulis mengikuti program pendidikan spesialisasi ini.

Kepada yang terhormat Prof. Dr. dr. H.Tjahjono, Sp.PA (K), FIAC, Prof. Dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, Sp.Park, dt.Pudjadi, SU, dr. Kusmiyati D.K. M.Kes yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan ilmu selama penulis mengikuti program pendidikan spesialisasi ini.

Kepada yang terhormat dr. Suhartono M.Kes. yang banyak memberikan masukan dan bimbingan dalam hal metodologi penelitian dan analisis data hingga karya akhir ini selesai.

Kepada semua guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro yang senantiasa memberikan pengarahan, referensi dan dukungan moril selama mengikuti pendidikan magister dan penyusunan karya akhir ini.

Kepada analis laboratorium Ibu Atin dkk dari laboratorium PAU (Penelitian Antar Universitas) Universitas Gajah Mada yang telah banyak membantu dalam penyelesaian karya akhir penulis dan bimbingannya dalam masalah pemeriksaan laboratorium yang terkait dalam penelitian penulis.

Ucapan terimakasih dan penghargaan juga saya sampaikan kepada semua rekan Residen, seluruh Paramedis di bangsal neurologi, poliklinik maupun neurofisiologi,

juga bapak Sibut, Bapak Toyib, Bapak Djaya dan Ibu Yuli Astuti yang banyak membantu penulis dalam mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Penyakit Saraf.

Tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada pasien-pasien yang menjadi subyek penelitian, atas ketulusan dan kerjasama yang diberikan selama proses penelitian karya akhir ini.

Ucapan terima kasih ini secara khusus saya sampaikan kepada orang tua dan mertua saya tercinta yang telah banyak memberi bantuan dan dorongan moril maupun materiil untuk keberhasilan saya dalam mencapai cita-cita.

Ucapan terima kasih juga secara tulus saya sampaikan kepada istri tercinta Eni Supini dan anak-anakku, Annisa Fitriani, Karina Rahma Aulia dan Nabila Nurhasanah tercinta serta saudara-saudara saya yang tersayang yang dengan penuh pengertian, kesabaran dan cinta kasih telah banyak berkorban, memberi semangat dan dorongan baik moril maupun materiil sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan.

Saya sadari tesis ini masih belum sempurna, untuk itu saya mengharapkan saran-saran dari para pembaca, khususnya dokter spesialis saraf agar tesis ini dapat lebih sempurna.

Akhirnya dalam kesempatan yang baik ini saya tidak lupa mohon maaf sebesar-besarnya kepada semua pihak, bila selama dalam masa pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada tutur kata dan sikap saya yang kurang berkenan di hati. Semoga rahmat hidayah dan lindungannya tercurah pada kita semua. Amin.

Semarang, April 2008

Penulis

ABSTRAK

Latar belakang : Metabolisme asam arakhidonat oleh enzim siklooksigenase dan lipooksigenase yang terjadi 6 – 48 jam awitan stroke merupakan sumber utama radikal bebas yang timbul lambat. Radikal bebas bereaksi dengan *polyunsaturated fatty acid* di otak melalui reaksi peroksidasi lipid dengan produk akhir utama MDA. Aktivitas stres oksidatif kembali ke tingkat normal pada hari ke-5 awitan stroke dengan pemeriksaan SOD serial. Kadar MDA plasma diharapkan berhubungan dengan keluaran klinis penderita stroke iskemik akut saat masuk dan hari ke-5.

Metode penelitian : Merupakan penelitian observasional dengan pendekatan kohort pada Agustus 2007 – Januari 2008 di RSUP. Dr.Kariadi Semarang. Empat puluh tiga pasien yang pertama kali mengalami stroke iskemik akut dengan awitan kurang 48 jam saat masuk telah dilakukan pemeriksaan kadar MDA plasma dan penilaian skor NIHSS saat masuk dan pada hari ke-5 awitan stroke. Analisis yang digunakan ialah uji korelasi Rank Spearman dan uji Chi-Square.

Hasil : Analisis hubungan kadar MDA plasma dan skor NIHSS : saat masuk : $p=0.404$, $r=0,130$; pada hari ke-5: $p=0,784$, $r=-0,030$. Analisis hubungan kategori kadar MDA plasma (normal atau lebih dari normal) dengan kategori keluaran klinis (ringan atau sedang-berat) : saat masuk : $p = 0,521$, PR (*prevalence ratio*) = 1,242, CI (*Confidence interval*) = 0,783-1,970; hari ke-5 : $p = 0,937$,PR = 0,840, CI = 0,379-1,861. Analisis hubungan kategori kadar MDA plasma saat masuk dengan kategori keluaran klinis hari ke-5 : $p=0.902$, RR(*relative risk*)= 1,144 ,CI = 0,617 – 2,121.

Simpulan : Kadar MDA plasma mempunyai hubungan sangat lemah dengan keluaran klinis dan kategori kadar MDA plasma saat masuk bukan merupakan risiko terhadap keluaran klinis yang lebih buruk pada hari ke-5.

ABSTRAC

Background : *The metabolism of arachidonic acid by the enzyme of cyclooxygenase and lipooxygenase that occurs in 6 - 48 hr after onset of stroke is the main source of free radical that evolves lately. The free radical reacts with polyunsaturated fatty acid in the brain through the reaction of lipid peroxidation with the main end-product of MDA. The activity of oxidative stress goes back to normal level in day-5 after onset of stroke according to serial SOD examination. The level of plasma MDA is expected to be associated with the clinical outcome in patients with acute ischemic stroke at the time of entry to hospital and at day-5.*

Method of study : *This was observasioal study with propective approach in August 2007 through January 2008 at Dr. Kariadi Hospital Semarang. Fourty-three patients that for the first time experience acute ischemic stroke that initiate less than 48 hours before entry to hospital have underwent measurement of plasma MDA level and of NIHSS scores at the time entry to hospital and at day-5 after onset of stroke. The analysis used here are Rank Spearman correlation test and Chi-Square test.*

Results : *Analysis of correlation between plasma MDA level and NIHSS score: at time of entry : $p=0.404$, $r=0.130$; at day-5 : $p=0.784$, $r=-0.030$. Analysis of correlation between the category of plasma MDA level (normal or higher than normal) and the category of clinical outcome (mild to moderate-severe) : at the time of entry : $p=0.521$, $PR(\text{prevalence ratio})= 1.242$, $CI(\text{Confidence interval})= 0.783-1.970$; at day-5 : $p=0.937$, $PR = 0.840$, $CI= 0.379-1.861$. Analysis of correlation between the category of plasma MDA level at time of entry and the category of clinical outcome at day-5 : $p=0.902$, $RR(\text{relative risk})= 1.144$, $CI= 0.617 - 2.121$.*

Conclusion : *Plasma MDA level has very weak correlation with the clinical outcome, and the category of plasma MDA level at the time of entry to hospital is not a risk factor for a worse clinical outcome at day-5.*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang penelitian.....	1
1.2. Rumusan masalah	5
1.3. Originalitas penelitian	5
1.4. Tujuan penelitian.....	5
1.5. Manfaat penelitian.....	6
1.6. Tabel matriks penelitian terkait terdahulu.....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Stroke	
2.1.1 Definisi stroke.....	9
2.1.2 Patofisiologi stroke iskemik akut.....	9
2.1.3 Iskemik kaskade.....	11
2.1.4 Mekanisme pembentukan radikal bebas pada stroke iskemik akut.....	17
2.1.5 Diagnosis stroke iskemik akut.....	20
2.2. Malondialdehid (MDA) sebagai produk hasil stres oksidatif	
2.2.1 Sumber – sumber penghasil radikal bebas.....	21

2.2.2	Stres oksidatif.....	22
2.2.3	MDA sebagai hasil utama peroksidasi lipid akibat stres oksidatif.....	28
2.2.4	Malondialdehid sebagai petanda biologis stres oksidatif	32
2.2.5	Malondialdehid pada penyakit stroke iskemik akut.....	35
2.2.6	Pengukuran kadar malondialdehid.....	37
2.3.	Keluaran klinis penyakit stroke iskemik akut	
2.3.1	Penilaian keluaran penyakit stroke iskemik akut	38
2.3.2	NIHSS.....	40
2.4	Kerangka teori.....	42
2.5	Kerangka konsep.....	43
2.6	Hipotesis.....	43
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN		
3.1.	Ruang lingkup penelitian	44
3.2.	Rancang bangun penelitian... ..	44
3.3.	Populasi dan sample.....	44
3.4.	Besar sampel.....	46
3.5.	Cara sampling	46
3.6.	Variabel penelitian	46
3.7.	Cara pengumpulan data.....	49
3.8.	Analisis data.....	49
3.9.	Etika penelitian.....	50
3.10.	Keterbatasan penelitian.....	50
BAB 4. HASIL PENELITIAN		
4.1.	Kharasteristik subyek penelitian.....	53
4.2.	Kadar MDA dan skor NIHSS.....	56
4.3.	Variabel-variabel bebas dan kategori skor NIHSS hari ke-5.....	58
4.4.	Hubungan kadar MDA dan skor NIHSS.....	59
4.5.	Kadar MDA dan skor NIHSS berdasarkan kategori defisit neurologis.....	62

4.6.	Perbedaan kadar MDA saat masuk dengan keluaran klinis yang memburuk dan klinis stabil – perbaikan.....	65
BAB 5.	PEMBAHASAN.....	67
BAB 6.	SIMPULAN DAN SARAN.....	74
	DAFTAR PUSTAKA.....	75
	LAMPIRAN.....	83

DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
1.	Kharasteristik umum subyek penelitian.....	53
2.	Hasil pemeriksaan tanda vital penderita stroke iskemik akut saat masuk untuk dirawat di RSUP. Dr. Kariadi Semarang.....	54
3.	Hasil pemeriksaan laboratorium darah penderita stroke iskemik akut pada saat masuk di rawat di RS. Dr. Kariadi Semarang.....	55
4.	Hasil pengukuran asupan vitamin E dan C sebelum dan setelah menderita stroke.....	56
5.	Hubungan variabel-variabel bebas dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis hari ke-5.....	59
6.	Jumlah penderita berdasarkan kategori keluaran klinis ringan atau sedang-berat pada saat masuk dan hari ke-5.....	63
7.	Hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis awitan hari ke-5.....	63
8.	Hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis saat masuk	64
9.	Hubungan antara kategori kadar MDA hari ke-5 dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis awitan hari ke-5.....	64

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
1.	Sumber radikal oksigen, peroksidasi lipid dan penurunan kadar GSH akibat iskemia dan reperfusi.....	20
2.	Sumber endogen dan eksogen radikal bebas.....	22
3.	Metabolisme asam arakhidonat dan peroksidasi lipid.....	24
4.	Kerusakan jaringan akibat peroksinitrit dan superoksid.....	27
5.	Tiga fase reaksi berantai peroksidasi lipid.....	29
6.	Tahapan skematis peroksidasi lipid yang menghasilkan bentuk produk sekunder dan <i>adducts formations</i>	31
7.	Rumus bangun MDA.....	32
8.	Rerata kadar MDA plasma darah tepi saat masuk dan hari ke-5	57
9.	Rerata Skor NIHSS saat masuk dan hari ke-5 penderita stroke iskemik akut...58	
10.	Hubungan kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk.....	60
11.	Hubungan kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS penderita stroke iskemik akut awitan hari ke- 5	60
12.	Hubungan antara kadar MDA plasma darah tepi saat masuk dengan skor NIHSS awitan hari ke-5 penderita stroke iskemik akut.....	61
13.	Hubungan antara selisih kadar MDA plasma darah tepi dengan selisih skor NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk dan awitan hari ke-5.....	62
14.	Perbedaan kadar MDA pada penderita keluaran klinis yang memburuk dengan yang stabil-perbaiki.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
1.	<i>Ethical clearance</i>	83
2.	Persetujuan mengikuti penelitian.....	84
3.	Daftar pertanyaan dan pemeriksaan.....	86
4.	NIHSS.....	90
5.	Kuesioner asupan vitamin C sebelum stroke.....	92
6.	Kuesioner asupan vitamin E sebelum stroke.....	93
7.	Kuesioner asupan vitamin C setelah stroke.....	94
8.	Kuesioner asupan vitamin E setelah stroke.....	95
9.	Prosedur dan cara kerja pemeriksaan kadar MDA.....	96
10.	Hasil SPSS analisa statistik.....	98

DAFTAR SINGKATAN

AIF	= apoptotic inducing factor
ALS	= amyotrophic lateral sclerosis
Apaf 1	= activating factor of apoptotic protease-1
APE	= apurinic pyrimidinic endonuclease
AT 1	= angiotensin type 1 receptor
BH4	= tetrahydrobiopterin
COX 2	= cyclooxygenase 2
DAG	= diacylglycerol
eNOS	= endothelial nitric oxide synthetase
FFQ	= food frequency questionnaire
GCS	= Glasgow coma scale
GPx	= glutathione peroxidase
GSH	= glutathione
HClO	= asam hipoklorus
HNE	= hidroksynonenal
HPLC	= high performance liquid chromatography
ICAM	= intercellular adhesion molecule
iNOS	= inducible nitric oxide synthetase
IP3	= inositol -1,4,5-trisphosphate
MDA	= malondialdehyde
MnSOD	= manganese SOD
MRI	= magnetic resonance imaging
NAD	= adenine nucleotide
NIHSS	= National Institutes of Health stroke scale
NO	= nitric oxide
nNOS	= neuronal nitric oxide synthetase
NF- κ B	= nuclear factor- κ B

O_2^-	= superoksid
OH^-	= radikal hidroksi
$ONOO^-$	= peroksinitrit
Ox- LDL	= oxidized LDL
PARP	= poly ADP ribose polymerase
PLA_2	= phospolipase A2
PUFA	= polyunsaturated fatty acid
ROS	= reactive oxygen species
sGC	= soluble guanylate cyclase
SOD	= superoxide dismutase
TBARS	= thiobarbutiric acid reactive substance
Tx A2	= tromboxan A2
VCAM	= vasculer cell adhesion molecule

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang penelitian

Stroke secara nyata menjadi penyebab kematian dan kecacatan di seluruh dunia. Di Amerika Serikat, menjadi penyebab kematian peringkat ketiga dan penyebab utama kecacatan berat jangka panjang. Sekitar 750.000 kasus stroke terjadi pertahun, dengan angka kematian lebih dari 150.000 kasus. Berdasarkan rata-rata umur, insidennya antara 100 sampai 300 orang per 100.000 penduduk, angka kematian antara 50 sampai 100 orang per 100.000 penduduk. Kecacatan yang ditimbulkan oleh stroke dapat berupa kecacatan jangka panjang dimana lebih dari 40% penderita tidak dapat diharapkan untuk mandiri dalam aktifitas kesehariannya dan 25% menjadi tidak dapat berjalan secara mandiri.^{1,2}

Stroke terdiri atas stroke iskemik dan stroke hemoragik dengan faktor risiko yang heterogen. Stroke iskemik mencapai sekitar 70 – 80% dari keseluruhan kasus stroke. *Northren Manhattan Stroke Study* melakukan penelitian antara tahun 1993 – 1997 mendapatkan frekuensi stroke iskemik 77%, perdarahan intraserebral 17% dan perdarahan subarakhnoid 6%. Infark serebri merupakan bentuk tersering yang didapatkan, yang berhubungan dengan adanya trombosis pada suatu arteri atau adanya oklusi pembuluh darah oleh suatu emboli.^{3,4}

Kondisi iskemia otak adalah picu yang mencetuskan berbagai proses seluler yang masing – masing dapat berjalan sendiri maupun saling berkaitan, namun

semuanya bisa berakhir dengan kematian neuron dan kerusakan jaringan otak yang menetap, yang bermanifestasi sebagai defisit neurologis yang permanen. Rangkaian proses tersebut dimulai dengan berkurangnya pasokan oksigen dan glukosa, kemudian diikuti proses seluler meliputi peningkatan pelepasan glutamat, asidosis, peningkatan kalsium intrasel, proses inflamasi dengan peningkatan pelepasan sitokin dan migrasi leukosit serta terbentuknya radikal bebas.^{3,5,6}

Pada area otak yang mengalami iskemia, sebagian besar area tersebut terbentuk infark pada 3 – 6 jam setelah awitan klinis muncul. Di lain pihak, perluasan area infark relatif lebih lama, sekitar 48 – 72 jam dari awitan stroke. Walaupun jarang, bisa menjadi lebih lama akibat pengaruh penambahan edema otak dan proses lain yang terjadi lambat sebagai konsekuensi adanya iskemia. Menurut Chimura dkk, edema dapat menyebabkan perluasan area kerusakan otak dalam 1 minggu awitan stroke.^{5,7}

Peningkatan produksi radikal bebas terjadi baik pada saat iskemia otak maupun pada saat reperfusi. Kerusakan mitokondria saat iskemia akan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas. Selama reperfusi terjadi reoksigenasi yang menyebabkan peningkatan tersedianya oksigen sebagai bahan yang dibutuhkan berbagai enzim oksidasi, sehingga akan terbentuk radikal bebas dengan peningkatan yang sangat drastis. Selain itu, asam arakhidonat yang terbentuk selama iskemia, akan dimetabolisir oleh enzim lipooksigenase dan siklooksigenase saat fase reperfusi dan terbentuk radikal bebas.^{3,8,9} Akumulasi asam arakhidonat akibat iskemia otak yang terjadi 6 – 24 jam setelah awitan iskemia otak di metabolisme oleh enzim

siklooksigenase pada 6 – 48 jam setelah awitan iskemia otak dan menjadi sumber utama produksi radikal bebas yang timbul lambat.^{10,11}

Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan cenderung bereaksi dengan molekul lain untuk mencari pasangan elektronnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Radikal bebas dapat bereaksi dengan berbagai molekul, terutama lipid membran, protein dan DNA, sehingga dapat merubah struktur dan fungsinya, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel.^{12,13,14}

Pengukuran radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan, oleh karena radikal bebas tidak menetap lama, mempunyai waktu paruh yang pendek dan menghilang dalam hitungan detik. Berbagai substansi biologis dikembangkan sebagai petanda biologis (*biomarker*) stres oksidatif. Substansi yang sudah dikenal dan banyak dipakai sebagai petanda biologis peroksidasi lipid dan stres oksidatif adalah malondialdehid (MDA). MDA banyak didapatkan dalam sirkulasi dan merupakan produk utama hasil reaksi radikal bebas dengan fosfolipid, di produksi secara konstan sesuai dengan proporsi peroksidasi lipid yang terjadi, sehingga merupakan indikator yang baik untuk melihat kecepatan (*rate*) peroksidasi lipid *in vivo*.¹⁵⁻¹⁸

Penelitian lain yaitu, Mathias Spranger dkk (1997), yang menilai kadar SOD(superoksid dismutase) serum serial pada hari ke-1, ke-3, ke-5 dan ke-10 pada penderita stroke iskemik akut, mendapatkan kadar SOD berkorelasi negatif dengan derajat defisit neurologis dan luas infark menggunakan CT scan, dan penurunan kadar SOD akan mencapai kembali kadar SOD serum kontrol pada hari ke-5.¹⁹

Banyak penelitian yang menunjukkan peningkatan yang bermakna kadar plasma MDA darah tepi pada fase akut stroke iskemik dibanding kontrol. Sharp, Mulholland, Trinick (1994) mendapatkan perbedaan yang bermakna dalam 48 jam awitan stroke iskemik akut, di mana kadar MDA pada kasus stroke ($1,65 \pm 0,08$) dan kontrol grup ($0,83 \pm 0,06$) mikromol/l dengan $p < 0,001$. Belch, Mc Laren, Hanslip, Hill, Davidson (1998) mendapatkan hasil pada kasus stroke iskemik akut ($8,6 \pm 2,01$) dan kontrol grup ($7,1 \pm 1,07$) nmol/ml dengan $p < 0,001$. Kossi, Zakhary (2000) dengan metode satoh dalam 2 hari awitan stroke iskemik akut, didapatkan hasil pada kasus stroke ($1,71 \pm 0,38$) dan kontrol grup ($1,00 \pm 0,12$) mikromol/l dengan $p < 0,001$. Yang, Chang, Hu (2004) mendapatkan peningkatan yang bermakna kadar MDA kasus stroke iskemik akut dibanding kontrol.²⁰⁻²³

Aygul, Kotan, Demirbas, Ulvi, Deniz (2006) melakukan penelitian pada 19 pasien stroke iskemik akut dengan 20 kontrol dan dilakukan pemeriksaan kadar plasma MDA darah tepi dengan metode satoh dalam 24 jam awitan stroke. Kadar MDA meningkat bermakna dibanding kontrol, pada kasus stroke ($16,5 \pm 3,5$) dan kontrol ($14,4 \pm 3,4$) nmol/ml dengan $p < 0,05$. Pada penelitian ini juga didapatkan korelasi negatif antara kadar plasma MDA darah tepi dengan *Glasgow coma scale* (GCS).⁶

Polidori, Cherubini, Sthal, Senin, Sies, Mecocci (2002) melakukan penelitian pada 28 penderita stroke iskemik akut dengan usia lebih dari 65 tahun dengan 76 kontrol. Pemeriksaan kadar MDA dilakukan saat masuk, awitan 24 jam, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-7 dan pemeriksaan Barthel Index (BI) dilakukan pada saat

masuk dan hari ke-7. Pada penelitian ini didapatkan kadar MDA plasma secara bermakna lebih tinggi pada pasien dengan klinis yang memburuk dibanding dengan klinis yang stabil.²⁴

NIHSS (*National Institutes of Health Stroke Scale*) menilai keluaran klinis neurologis dengan cakupan cukup luas, sehingga dapat menggambarkan fungsi otak secara keseluruhan dan merupakan skala penilaian yang dewasa ini sering digunakan untuk penilaian keluaran penyakit stroke iskemik.

1.2. Rumusan masalah

Bertolak dari uraian di atas permasalahan dirumuskan sebagai berikut :

Apakah ada hubungan kadar MDA plasma darah tepi dengan keluaran klinis dinilai menggunakan NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk (awitan kurang dari 48 jam) dan pada hari ke-5 ?

1.3. Originalitas penelitian

Penelitian yang menilai kadar MDA plasma darah tepi dihubungkan dengan skor NIHSS stroke iskemik akut saat masuk (awitan < 48 jam) dan awitan hari ke-5 belum pernah kami temukan dalam literatur-literatur yang ada.

1.4. Tujuan penelitian

Tujuan umum :

Menganalisis hubungan antara kadar MDA plasma darah tepi pada penderita stroke iskemik akut dengan keluaran klinis stroke iskemik akut dinilai menggunakan skor NIHSS.

Tujuan khusus :

1. Menganalisis hubungan kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk (awitan < 48 jam) dan awitan hari ke-5.
2. Menganalisis hubungan kadar MDA plasma darah tepi kategori normal atau lebih dari normal dengan keluaran klinis kategori ringan atau sedang – berat penderita stroke iskemik akut saat masuk (awitan < 48 jam) dan hari ke-5.
3. Menganalisis hubungan kadar MDA plasma darah tepi kategori normal atau lebih dari normal saat masuk (awitan < 48 jam) dengan keluaran klinis kategori ringan atau sedang – berat awitan hari ke-5 pada penderita stroke iskemik akut.

1.5. Manfaat penelitian

1. Sebagai sumber ilmu pengetahuan mengenai kadar MDA dan hubungannya dengan keluaran klinis pada penderita stroke iskemik akut.
2. Sebagai bahan informasi awal bagi pasien dan keluarganya untuk menjelaskan keluaran klinis penyakit stroke pada fase akut.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat juga menjadi masukan bagi penelitian selanjutnya.

1.6. Tabel matriks penelitian terkait terdahulu

No.	Nama peneliti (Tahun)	Judul penelitian	Hasil penelitian
1.	Santos MT, Valles J, Aznar J, Vilches J (1980) ²⁵	Determinations of plasma malondialdehyde-like material and its clinical applications in stroke patients	-Terdapat perbedaan bermakna kadar <i>MDA-like material</i> dalam 4 hari awitan stroke dibanding kontrol pada penderita dengan perdarahan suaraknoid, trombosis serebral, TIA, kecuali pada penderita stroke dengan infark lakuner
2.	Sarpe PC, Mulholland C, Trinick T (1994) ²⁰	Ascorbate and malondialdehyde in stroke patients	-Terdapat perbedaan bermakna kadar MDA penderita stroke dalam awitan 48 jam dibanding kontrol
3.	Azzimondi G, Lanzarini C, Bassein L, Vaona I, Guarnieri C. (1997) ²⁶	Plasma lipoperoxidative markers in ischemic stroke suggest brain embolism	-Kadar MDA, HNE, MPO berbeda bermakna dibanding kontrol, setelah dilakukan uji <i>multiple logistic regression</i> terhadap variabel pengganggu, hanya pada stroke akibat emboli dari penyakit jantung berhubungan dengan perubahan produk lipid peroksidasi
4.	Belch J, Mc Laren, Hanslip, Hill, Davidson (1998) ²¹	The white blood cell and plasma fibrinogen in thrombotic stroke. A significant correlation	-Kadar MDA plasma meningkat bermakna dibanding kontrol pada penderita stroke iskemik akut dan terdapat korelasi positif antara kadar fibrinogen dengan leukosit dan MDA
5.	El Kossi MMH, Zakhary MM. (2000) ²²	Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke.	- Kadar MDA plasma meningkat bermakna pada penderita stroke iskemik akut dalam 2 hari awitan dibanding kontrol
6.	Polidori MC, Cherubini A, Sthal W, Senin U, Sies H, Mecocci P (2002) ²⁴	Plasma carotenoid and malondialdehyde levels in ischemics stroke patients: Relationship to early outcome	-Kadar MDA plasma meningkat bermakna, kadar carotenoid plasma menurun bermakna dibanding kontrol saat masuk -Kadar MDA plasma lebih rendah secara bermakna pada grup S(<i>stabil</i> /klinis stabil atau perbaikan) dibanding pada grup W(<i>worse</i> /klinis memburuk) dinilai menggunakan skor Barthel Index saat masuk dan

			1minggu awitan stroke
7.	Yang TH, Chang CY, Hu ML (2004) ²³	Various from of homocystein and oxidative status in the plasma of ischemic-stroke patients as compared to healthy controls	-Terdapat peningkatan secara bermakna kadar MDA plasma dan terdapat penurunan secara bermakna kadar <i>oxygen-radical absorbance capacity</i> (ORAC) dibanding kontrol
8.	Aygul R, Kotan D, Demirbas F, Ulvi H, Deniz O (2006) ⁶	Plasma oxidant and antioxidant in acute ischemic stroke	-Kadar MDA plasma meningkat bermakna dibanding kontrol -Terdapat korelasi negatif antara kadar MDA dengan skor GCS

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stroke iskemik akut

2.1.1 Definisi stroke

Menurut WHO pada tahun 1995 definisi stroke adalah tanda-tanda klinis yang berkembang cepat akibat gangguan fungsi otak fokal (atau global) dengan gejala-gejala yang berlangsung selama 24 jam atau lebih atau menyebabkan kematian, tanpa adanya penyebab lain yang jelas selain vaskuler.²

2.1.2. Patofisiologi stroke iskemik akut

Berbagai proses fisiologik pada otak sangat tergantung kesediaan energi untuk metabolisme. Tersedianya energi tergantung pada pasokan oksigen dan glukosa lewat aliran darah. Otak manusia mengkonsumsi 20 – 25% oksigen dan hampir 70% glukosa tubuh. Proses pembentukan energi pada otak melalui oksidasi fosforilasi pada mitokondria menghasilkan 95% ATP otak, sehingga berkurangnya suplai oksigen pada sel otak mengakibatkan gangguan pada fungsi otak. Glukosa merupakan sumber energi utama pada otak, dengan mekanisme utama melalui proses glikolisis aerob. Kurang lebih 85 – 90% glukosa yang dikonsumsi otak, mengalami oksidasi menjadi CO² dan H₂O. Pasokan glukosa otak dalam jumlah yang lebih kecil dibanding dengan rata-rata konsumsinya. Pasokan glukosa pada otak akan habis 3 – 6 menit, bahkan dalam kondisi hanya untuk proses oksidasi. Oleh karena itu fungsi otak

tergantung dari pasokan glukosa secara kontinyu. Jika glukosa darah yang dibutuhkan untuk kebutuhan kontinyu energi mengalami penurunan pada ambang kritis, jaringan otak akan menggunakan glikogen bebas. Oksidasi total glikogen bebas otak membutuhkan waktu hanya 5 – 7 menit.⁷

Percobaan pada otak tikus menunjukkan respon metabolik tertentu pada penurunan aliran darah yang progresif. Akibat oklusi akan terjadi gangguan hemodinamik aliran darah otak yang secara bertahap, dikenal beberapa level kritis berdasarkan beratnya oklusi. Penurunan aliran darah otak hingga 70–80 % (kurang dari 50 – 55 ml/100gr otak/menit, level kritis pertama), menurut Hosman mengakibatkan sintesis protein dapat terhambat karena adanya disagregasi ribosom. Penurunan aliran darah otak hingga 50% (hingga 35ml/100 gr otak/menit, level kritis kedua) akan mengaktifkan glikolisis anaerob dan meningkatkan kadar laktat, yang selanjutnya berkembang menjadi asidosis laktat dan edema sitotoksik. Penurunan aliran darah otak hingga 30 % (hingga 20 ml/100 gr otak / menit), akan mengakibatkan iskemia sehingga terjadi berkurangnya produksi ATP, defisit energi, serta adanya gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel dan dilepaskannya asam amino neurotransmitter eksitatorik yang berlebihan.⁷

Pada saat aliran darah otak mencapai hanya 20 % dari nilai normal (10 – 15ml/100gr/menit), maka neuron – neuron otak mengalami hilangnya gradien ion dan selanjutnya terjadi depolarisasi anoksik dari membran. Jika jaringan otak mendapat aliran darah kurang dari 10 ml/100 gr jaringan otak permenit akan terjadi kerusakan

neuron yang permanen secara cepat dalam waktu 6 – 8 menit. Daerah ini disebut “ischemic core”. Dalam beberapa jam daerah sentral yang mengalami infark dikelilingi oleh bagian iskemik dengan jaringan yang masih hidup dengan aliran darah otak lebih dari 20ml/100 gr otak/ menit, disebut daerah “ischemic penumbra”. Metabolisme energi tetap ada untuk beberapa lama, hanya terjadi gangguan fungsional, tidak terdapat perubahan morfologi. Daerah ini merupakan zona kritis perfusi, dimana sel akan tetap hidup jika hemostasis tetap ada. Daerah penumbra merupakan sasaran utama terapi untuk beberapa jam pertama dan hari setelah onset stroke.⁷

2.1.3 Iskemik kaskade

Mekanisme patologis awal pada stroke adalah berkurangnya energi (ATP), yang sangat diperlukan dalam keseimbangan ionik dalam sitoplasma neuron dengan menyediakan energi untuk pertukaran ion melalui aktifitas enzim Na⁺K-ATPase. Dengan berkurangnya ATP akibat iskemia menyebabkan terjadinya depolarisasi membran dan terjadi pelepasan glutamat di ruang ekstraseluler. Glutamat berperan awal pada kerusakan otak akibat iskemia, pengaktifan reseptor glutamat secara berlebihan akan mengakibatkan terjadinya depolarisasi yang terus menerus yang menimbulkan kematian neuron (eksitotoksisitas).²⁷⁻²⁹

Reseptor glutamat terdiri dari :

1. Reseptor metabotropik yang bergandengan dengan protein G dan memodulasi *second messenger* dalam sel seperti inositol -1,4,5-trifosfat (IP3) dan

diacylglycerol(DAG). Peningkatan kadar kalsium intrasel ditambah dengan peningkatan konsentrasi DAG merubah aktifitas enzim yang mengatur protein membran, mengakibatkan peningkatan kepekaan reseptor glutamat. Hal ini mengakibatkan adanya *vicious circle* sehingga mengakibatkan akumulasi ion kalsium berkelanjutan dan peningkatan pelepasan glutamat dari terminal sinap.
7,27

2. Reseptor ionotropik, yang terdiri atas reseptor yang mempunyai hubungan langsung dengan saluran ion membran. Reseptor ini terbagi lagi menjadi reseptor N-methyl-d-aspartate(NMDA), reseptor α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) dan kainat. Reseptor NMDA menyebabkan masuknya ion kalsium dan natrium kedalam sel. Reseptor ini paling banyak teraktifkan pada iskemia fokal, kekhususan reseptor ini terletak pada kemampuannya memasukkan ion kalsium dan adanya ion magnesium ekstraseluler yang menutup saluran ion pada keadaan hiperpolarisasi membran. Pada keadaan depolarisasi Mg^{2+} terlepas dan menyebabkan terbukanya saluran ion. AMPA dan Kainat terutama untuk memasukkan ion natrium. Peranan reseptor ini dengan masuknya ion natrium akan menyebabkan terjadinya depolarisasi jangka pendek pada membran post sinap, yang akan menambah masuknya ion kalsium. Masuknya ion natrium dan klorida(Cl^-) diikuti H_2O mengakibatkan pembengkakan pada dendrit apikal dan lisis neuronal. 7,27-29

Kadar ion kalsium yang tinggi intra sel dan transformasi dalam bentuk aktif dengan ikatan pada reseptor kalmodulin intra sel menyebabkan aktivasi enzim-enzim intraseluler tergantung kalmodulin seperti : fosfolipase, protein kinase dan endonuklease. Enzim – enzim tersebut merupakan picu dari berbagai rangkaian reaksi enzimatik, mengakibatkan kerusakan biomakromolekuler dan akhirnya kematian sel.^{7,29,30}

Fosfolipase akan mengakibatkan destruksi fosfolipid membran sel dan organela dan mengakibatkan dilepasnya asam arakhidonat. Metabolisme asam arakhidonat oleh enzim siklooksigenase akan terbentuk prostaglandin, tromboksan A₂, leukotrien dan O₂⁻ (superoksida). Kalpain 1 suatu enzim protease teraktivasi kadar kalsium intrasel merubah sintin dehidrogenase menjadi sintin oksidase. Selama reperfusi, dimana terdapat masukan oksigen pada daerah iskemik, hiposintin akan mengalami oksidasi dan terbentuk superoksida.^{7,30}

NO yang dihasilkan isoform nNOS dan eNOS terbentuk terus menerus (*constitutive*) dan dipertahankan dalam kadar yang rendah (*basic level NO*) dan dalam waktu singkat dalam hitungan detik, dengan cara ini berperanan dalam mengatur proses fisiologis sel, tetapi aktifitasnya dipengaruhi oleh kadar kalsium intra sel. nNOS pada susunan saraf pusat diaktivasi oleh glutamat yang berikatan pada reseptor NMDA, mengakibatkan peningkatan ion kalsium dalam sel. eNOS diaktivasi oleh *shear stress* pada pembuluh darah atau stimulasi muskarinik endotelial,

purinergik, kinin, subsatansi P atau reseptor trombin. Pencetus ini akan menyebabkan pelepasan kalsium dari endoplasmik retikulum.^{31,32,33}

Isoform iNOS terbentuk dalam makrofag dengan stimulasi sitokin (IL-1, IL-2, TNF alfa), lipopolisakarida dan endotoksin bakteri, aktifitasnya tidak dipengaruhi kadar ion kalsium dalam sel. Aktifitas iNOS terjadi 6 – 8 jam setelah induksi dan menghasilkan NO dalam jumlah besar (1000 x dari produksi eNOS atau nNOS) dan juga terbentuknya NO dalam waktu yang lebih lama.^{31,32,33} Interaksi antara NO dan superoksida 3 kali lebih cepat dibanding reaksi antara superoksida dengan SOD.³⁴

Kerusakan DNA akan mengaktifkan *DNA repair protein poly* (ADP ribose) *polymerase* (PARP) yang membutuhkan adenin nukleotida (NAD), adenin nukleotida merupakan sumber energi utama berbagai proses penting didalam sel. Pengaktifan PARP secara berlebihan mengakibatkan semakin menurunnya kesediaan energi.^{3,10}

Selama iskemia, ketika suplai oksigen terbatas, rantai transpor elektron pada membran bagian dalam mitokondria menjadi sangat berkurang, pada kondisi ini akan terbentuk oksigen radikal. Penelitian pada otak menunjukkan *ubiquinone cytochrome b* adalah senyawa utama yang memproduksi radikal oksigen. Pengeluaran kalsium dari retikulum endoplasma akan memacu translokasi Bax ke membran mitokondria. Translokasi ini menyebabkan Bax membentuk protein dimer dan akan berikatan dengan *permeability transition pore complex* (PTCP) dan menyebabkan peningkatan permeabilitas membran mitokondria serta terjadi pelepasan sitokrom c. Pelepasan

sitokrom c oleh mitokondria dikenal sebagai pemicu utama pengaktifan proses apoptosis. Pada sitoplasma sitokrom c akan mengaktifkan Apaf 1 dalam jalur sinyal apoptosis menuju pengaktifan kaspase 3 atau sistein protease yang merupakan pusat dari alur sinyal apoptosis.^{8,28}

Iskemia cerebral akut juga akan diikuti respon inflamasi berat yang melibatkan infiltrasi granulosit, limfosit T dan makrofag pada daerah iskemik dan daerah sekelilingnya. Sitokin proinflamasi seperti TNF alfa dan IL-1 beta mengalami peningkatan ekspresi dalam beberapa jam setelah terjadi lesi iskemik. Sitokin memberikan kontribusi terhadap perluasan infark pada periode post iskemik baik secara langsung maupun melalui induksi pembentukan neurotoksik seperti NO. TNF alfa juga memberikan kontribusi pada kematian neuron lewat proses apoptosis. Reperfusi yang dilakukan segera setelah sumbatan pembuluh darah dapat menormalkan kembali fungsi neuron, namun bila terjadi setelah iskemia, maka reperfusi tidak dapat menghambat kerusakan neuron. Adhesi molekul juga dilepaskan, sehingga neutropil, monosit dan makrofag, kemudian akan segera melekat pada lapisan endotel menyebabkan oklusi mikrovaskuler. Sebaliknya reperfusi pada jaringan yang sudah mengalami iskemik justru akan berbahaya karena menimbulkan peningkatan infiltrasi sel inflamasi dan oksigen yang dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas.^{3,28}

Adanya iskemia otak akut akan mengaktifasi program gen yang kompleks, yang akan memunculkan rangkaian ekspresi sejumlah gen. Beberapa dari gen

tersebut muncul segera setelah terjadi kerusakan sel dan lainnya muncul mengikuti kejadian seluler sesuai perkembangan kerusakan sel akibat iskemia atau untuk koordinasi proses reparasi. Gen yang muncul segera (*immediate early response*) adalah c-fos, c-jun, krox-20, zif/268 dll. Respon gen ini sifatnya tidak spesifik dan terjadi dengan adanya kerusakan sel termasuk iskemia. Saat ini telah terbukti ekspresi gen ini dan *heat shock* protein berhubungan dengan gen yang mengkode proses apoptosis sel. Rangkaian ekspresi yang muncul kemudian adalah gen yang mengkode molekul yang berhubungan dengan kematian sel lambat (*delayed neuronal death*) yang meliputi sitokin pro inflamasi (TNF α , IL-1-b, IL-6, MCP-1, CINC) dan adhesi molekul (ICAM 1, ELAM-1, P-selektin). Sintesis beberapa enzim juga muncul, seperti iNOS dan COX-2 yang berakibat timbulnya stres oksidatif.⁷

Proses kematian sel otak akibat iskemia melalui 2 proses yaitu nekrosis dan apoptosis. Kematian akibat nekrosis ditandai dengan adanya edema sitoplasma dan pembengkakan sel, kerusakan sitoskeleton dan ruptur membran sel dan organela. Tanda-tanda inflamasi nyata didapatkan pada nekrosis sel. Kematian sel pada proses apoptosis bersifat aktif dan didapatkan ekspresi protein baru. Energi sel normal sampai tahap final kematian sel, penurunan energi sel terjadi lambat akibat sekunder dari apoptosis. Aktivasi endonuklease menyebabkan pemecahan ikatan ganda DNA, terbentuk fragmentasi DNA, dan kondensasi kromatin. Sel menjadi mengkerut dan terbentuk tonjolan-tonjolan membran. Tonjolan membran bertambah besar dan terpisah dari sel membentuk *apoptotic bodies*, yang kemudian mengalami lisis dan

mengalami proses fagositosis. Proses apoptosis ini terjadi dalam beberapa hari. Pada apoptosis tidak didapatkan inflamasi atau hanya terdapat inflamasi ringan.^{27,30}

2.1.4. Mekanisme pembentukan radikal bebas pada stroke iskemik akut

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang paling tidak sedikitnya terdapat satu elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan cenderung bereaksi dengan molekul yang lain untuk mencari pasangan elektronnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Radikal bebas banyak terbentuk pada iskemia otak, karena dilepaskannya ion besi feritin saat iskemia. LCS tidak banyak mengandung protein yang mampu mengikat feritin, maka banyak besi feritin yang dilepaskan sel yang mengalami kerusakan akan tetap bebas, hingga berpotensi menjadi katalisator (reaksi fenton) bagi terbentuknya lebih banyak lagi radikal hidroksi yang merupakan radikal bebas yang paling reaktif / ganas. NO bereaksi dengan superoksida membentuk peroksinitrit, yang juga merupakan oksidan kuat.^{11, 35-37}

Pembentukan radikal bebas terjadi pada saat iskemia maupun saat reperfusi, melalui beberapa macam mekanisme. Selama iskemia, ketika suplai oksigen terbatas, rantai transpor elektron pada membran mitokondria bagian dalam mengalami reduksi yang cukup besar, maka akan terbentuk superoksida. Terbentuknya radikal oksigen di mitokondria merupakan mekanisme utama terbentuknya radikal bebas selama iskemia.⁸ Selama iskemia juga dapat terjadi peningkatan sintesis NO oleh nNOS akibat peningkatan produksi glutamat, dimana terdeteksi 10 menit setelah iskemia dan

dengan kadar puncak 30 menit setelah iskemia.³⁸ Radikal bebas sangat sedikit didapatkan di daerah *core* dibanding di daerah penumbra. Pemeriksaan radikal bebas dengan mengukur hidroksilasi oleh salisilat pada mikrodialisa, peningkatan awal terjadi selama iskemia di daerah penumbra dan tetap meningkat sampai 3 jam dan kemudian mengalami peningkatan lebih besar pada saat onset reperfusi.¹⁰

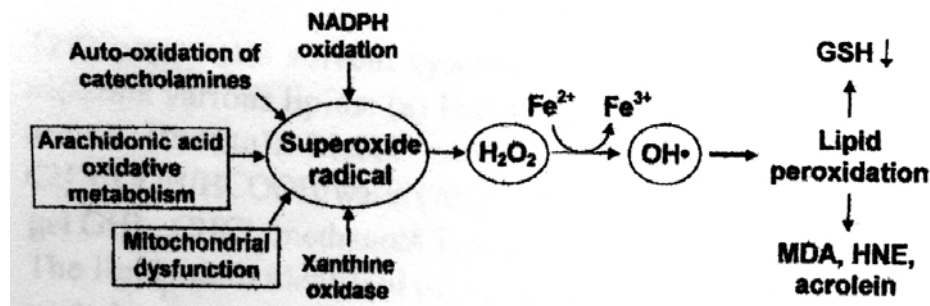
Mitokondria membentuk energi untuk sel melalui oksidasi fosforilasi membentuk ATP dengan cara transfer elektron membentuk oksigen dan H₂O (melalui siklus kreb). Transfer elektron tersebut melalui beberapa macam karier seperti ubiquinon, sitokrom c. Dalam kondisi normal transfer 98% elektron oleh karier elektron yang menghasilkan ATP dengan sekitar 1 - 2% elektron terlepas membentuk superoksida dan dapat didetoksifikasi oleh MnSOD/SOD2. Pada kondisi patologis, dalam keadaan iskemia, karier transpor elektron pada membran mitokondria bagian dalam mengalami kerusakan akibatnya banyak mengalami reduksi. Jika banyak karier elektron mengalami reduksi menghasilkan sampai sebesar lebih 2% elektron terlepas akan menghasilkan secara langsung elektron oksigen tidak berpasangan dan terbentuk superoksida. Disamping itu akumulasi ion kalsium intrasel berlebihan menyebabkan translokasi dari sikloporin D ke celah MPT (*mitochondrial permeability transition*) selama iskemia yang diduga menyebabkan diproduksi radikal bebas oleh mitokondria dengan mekanisme yang tidak diketahui. Penelitian pada otak tikus menunjukkan bahwa, ubiquinon sitokrom b, merupakan struktur utama pada mitokondria yang menghasilkan superoksida.^{8,10,39}

Selama reperfusi asam arakhidonat yang terakumulasi saat iskemia mengalami utilisasi, dimetabolisir enzim siklooksigenase dan lipooksigenase dan akan terbentuk prostaglandin, tromboksan A₂ dan superoksid. Mekanisme utama adanya akumulasi asam arakhidonat terjadi akibat induksi enzim siklooksigenase akibat iskemia otak yang terjadi 6 – 24 jam setelah awitan dan metabolisme asam arakhidonat oleh enzim siklooksigenase terjadi 6 – 48 jam setelah awitan iskemia otak dan menjadi sumber utama produksi radikal bebas yang timbul lambat.^{10,11}

Pada kondisi normal, otak mempunyai aktifitas rendah santin oksidase, dalam keadaan iskemia terjadi peningkatan konversi santin dehidrogenase menjadi santin oksidase akibat peningkatan kadar kalsium intrasel. Kerusakan adenin nukleotida selama iskemia menghasilkan akumulasi hipoksantin. Metabolisme Hipoksantin terjadi dengan adanya oksigen setelah reperfusi dan mengalami oksidasi oleh enzim santin oksidase dan terbentuk superoksid, H₂O₂ serta asam urat. Namun, kondisi ini lebih jelas terlihat pada iskemia global, dimana aktifitas santin oksidase meningkat 5 kali lipat setelah 15 menit iskemia pada penelitian tikus.^{8,10}

Sumber potensial lain produksi radikal bebas adalah metabolisme arginin oleh enzim *nitric oxide synthetase* (NOS) menjadi NO. Makrofag dan neutropil yang teraktifasi dan memproduksi superoksid dalam jumlah besar melalui bentuk fagositik isoform NADPH oksidase. Kombinasi NADPH oksidase dan mieloperoksidase pada sel fagosit menghasilkan asam hipokhlorous (HClO), yang termasuk salah satu oksidan kuat. Fagositik isoform NADPH oksidase yang teraktifasi oleh sitokin seperti

interferon gamma, IL1-b atau IL8 akan memproduksi iNOS 1 – 2 hari setelah iskemia fokal otak.^{10,12,40} Pada penelitian lain didapatkan iNOS dapat terdeteksi 12 jam setelah iskemia, mencapai kadar puncak 48 jam dan akan kembali ke *baseline* dengan memerlukan waktu sekitar 7 hari.⁴¹



Gambar 1. Sumber radikal oksigen, peroksidasi lipid dan penurunan kadar GSH akibat iskemia dan reperfusi.³²

2.1.5. Diagnosis stroke iskemik

Diagnosis stroke ditegakkan berdasarkan temuan klinis yang meliputi pemeriksaan klinis umum dan pemeriksaan klinis khusus (neurologis). CT Scan tanpa kontras dilakukan untuk melihat lesi iskemik yang mana tergantung pada ukuran, letak lesi dan onset. Lesi hipoden yang terlihat pada pemeriksaan CT Scan merupakan gambaran stroke iskemik, sedangkan lesi hiperden sebagai penanda stroke perdarahan. Pada sepertiga penderita stroke iskemik CT scan terlihat negatif, akan tetapi keadaan negatif tersebut tidak mengurangi makna CT scan sebagai alat diagnostik baku emas penderita stroke.⁴²

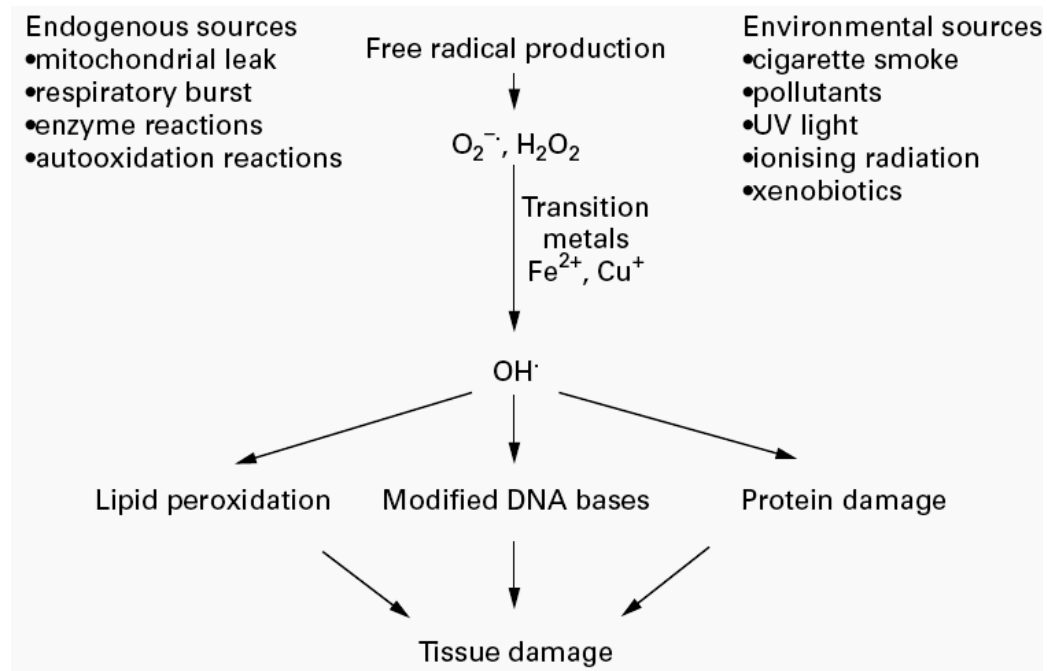
3.2. Malondialdehid (MDA) sebagai produk hasil stres oksidatif

2.2.1 Sumber – sumber penghasil radikal bebas

Radikal bebas dihasilkan selama proses fisiologis normal, namun pelepasannya meningkat pada keadaan iskemia, reperfusi, reaksi inflamasi dan penyakit neuro-degeneratif. Sumber-sumber endogen terbentuknya radikal bebas meliputi sistem NADPH oksidase, reaksi fosforilasi oksidatif, enzim oksidasi dan metabolisme arakhidonat, sedangkan sumber eksogen terbentuknya radikal bebas adalah radiasi ionisasi, merokok, alkohol, paparan polutan, sinar ultraviolet dan radiasi terionisasi.^{12,43}

Pada proses inflamasi terdapat peranan neutrophil yang dapat memproduksi oksigen radikal dengan peningkatan enzim NaDPH oksidase dan mieloperoksidase. Peningkatan produksi radikal bebas pada kondisi febris, asma, rheumatoid arthritis, SLE , psoriasis berhubungan dengan adanya proses inflamasi . Pada penderita DM peningkatan produksi radikal bebas disebabkan oleh beberapa mekanisme. Hiperglikemia mengakibatkan peningkatan produksi superoksid pada mitokondria komplek II, autooksidasi glukosa juga menghasilkan superoksid dan juga terjadi peningkatan LDL teroksidasi pada sel endotel. Stres mekanik pada hipertensi akan menginduksi translokasi p47 phox dan kemudian terjadi aktivasi NADPH oksidase. Aktivasi reseptor AT1 oleh angiotensin II juga mengakibatkan teraktifasinya NADPH oksidase dan superoksid juga diproduksi akibat aktivasi oleh 12-LO (lipooksigenase) dalam VSMCs (*vasculer smooth muscle cells*). Pada hiperkolesterolemia produksi ROS dan LDL teroksidasi (Ox-LDL) berhubungan dengan NADPH oksidase pada

subunit p22phox. ROS yang diproduksi akibat aktivasi NADPH oksidase meningkat secara bermakna dan secara progresif mencapai kadar puncak saat terjadi dekompensasi kordis.^{12,40,43}



Gambar.2. Sumber eksogen dan endogen radikal bebas⁴³

Pada penelitian sebelumnya didapatkan peningkatan kadar MDA dengan metode TBARS pada perokok, hipertensi, hiperlipidemia dan diabetes mellitus.⁴⁴ Kadar Mda juga meningkat pada penyakit asma, rheumatoid arthritis dan preeklamsia.⁴¹

2.2.2. Stres oksidatif

Stres oksidatif sebagai keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dengan antioksidan, dimana produksi radikal bebas melebihi kemampuan penghambat radikal alamiah atau mekanisme *scavenging* (pembersih). Mekanisme

penghambat radikal bebas terdiri dari antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen terdiri dari Superoksid dismutase(SOD), Glutathion peroksidase(GPx) dan katalase. Antioksidan eksogen terdiri dari vit E, betakaroten dan vit. C. ^{3,45}

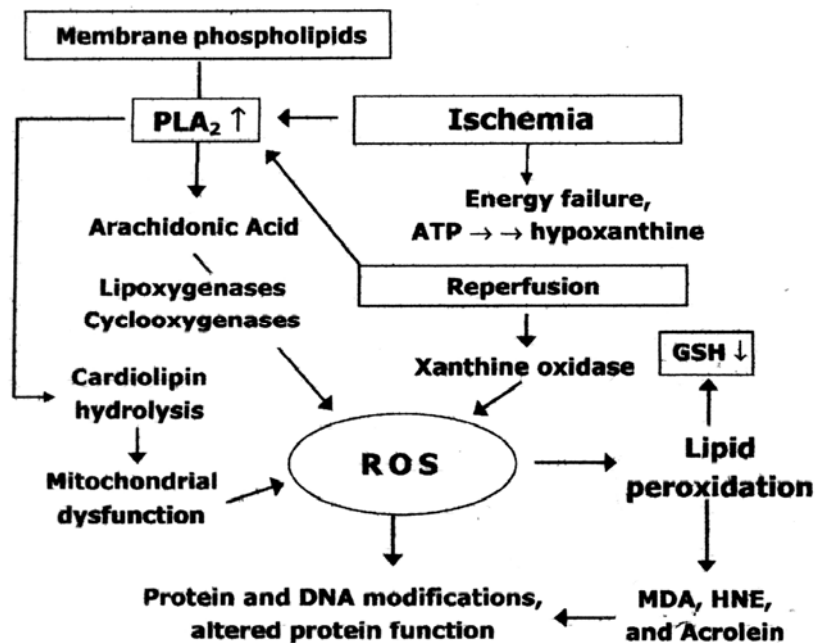
Stres oksidatif pada susunan saraf pusat sangat mematikan, sebab otak manusia terutama memakai metabolisme oksidatif. Meskipun berat otak hanya 2% dari berat tubuh, otak menggunakan sekitar 50% dari seluruh oksigen tubuh. Faktor lain sangat berbahaya stres oksidatif pada otak dengan adanya kandungan PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) yang tinggi, hampir 50% dari struktur jaringan otak. Jaringan otak mengandung asam askorbat 100 kali lipat dibanding di pembuluh darah perifer, tetapi mempunyai enzim katalase, glutathion peroksidase lebih rendah daripada jaringan lain, yang juga meningkatkan resiko terjadinya stres oksidatif. Radikal bebas merusak sel dengan bereaksi dengan makromolekul sel melalui proses peroksidasi lipid, oksidasi DNA dan protein. ^{3,7,45}

Peroksidasi lipid mengakibatkan gangguan pada fluiditas dan permeabilitas membran, kerusakan membran sel dan organela, kerusakan sitoskeleton, hambatan pada metabolisme sel dan gangguan transpor ion. Kerusakan mitokondria juga dapat terjadi menyebabkan produksi ROS bertambah. Produk-produk peroksidasi lipid MDA, HNE dan acrolein juga dapat bereaksi dengan protein mengakibatkan perubahan fungsi protein. ^{46,47}

Kerusakan pada DNA baik disebabkan radikal bebas maupun peroksinitrit mengakibatkan terbentuknya *single strand break DNA* dan struktur ini akan mengaktifasi poli ADP ribose polimerase (PARP). Aktivasi PARP mengakibatkan berkurangnya adenin nukleotida yang akan menghambat fungsi mitokondria,

sehingga terjadi penurunan ATP sel dan mengakibatkan kematian sel. PARP juga dapat mengaktifasi *apoptotic inducing factor* (AIF) di mitokondria. Mekanisme ini juga didukung dengan berkurangnya infark otak tikus diterapi dengan PARP inhibitor.^{3,10,41}

Oksidasi protein oleh radikal bebas membentuk karbonil grup atau disulfid, dan juga sebagai reduktan, menyebabkan formasi S-H dari ikatan S-S. Kerusakan pada protein, terutama bentuk enzim, akan mengganggu fungsinya.^{3,10}



Gambar. 3. Metabolisme asam arakhidonat dan peroksidasi lipid⁴⁸

Radikal bebas juga menyebabkan kematian sel melalui proses apoptosis dengan merangsang pelepasan sitokrom c dan kemudian akan mengaktifasi kaspase 3. Pada penelitian tikus pemberian antioksidan akan menghambat aktifasi kaspase 3, fragmentasi DNA dan pengurangan ukuran lesi otak. Penyebab lain yang mungkin

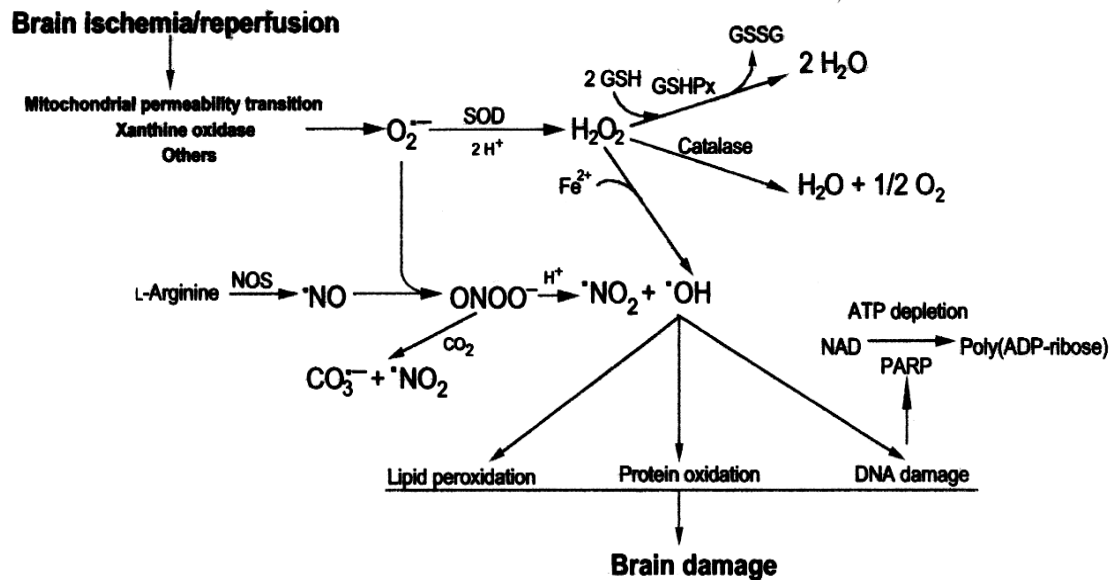
berhubungan antara stres oksidatif dan apoptosis adalah dengan berkurangnya aktifitas APE, yang merupakan protein pada inti yang menghilangkan radikal oksigen pada DNA yang teroksidasi.^{3,7}

NO yang dihasilkan eNOS mempunyai sifat protektif dan NO terbentuk dari nNOS dan iNOS yang terdapat dalam mikroglia dan makrofag mempunyai sifat neurotoksik. NO yang dihasilkan eNOS mempunyai sifat protektif yaitu mencegah adhesi leukosit, mengatur kontraktilitas pembuluh darah, efek vasodilatasi pembuluh darah dan mempunyai efek mencegah agregasi trombosit. NO bekerja pada sel baik secara langsung ataupun tidak langsung. Salah satu substrat terpenting adalah *soluble guanylate cyclase* (sGC). sGC yang diaktifasi konsentrasi fisiologis NO dan akan mengaktifasi cGMP yang akan memutus koneksi aktin dan miosin, setelah 10 detik terdapat relaksasi otot polos. Peningkatan konsentrasi cGMP pada trombosit akan menghambat adhesi dan agregasi. Pada sel neuron akan merubah elektrogenesis dan banyak data menunjukkan NO yang dihasilkan nNOS berfungsi juga sebagai neuromodulator pada susunan saraf pusat. Sebaliknya pada keadaan patologis, seperti pada iskemia otak dengan adanya aktivasi glutamat berlebihan akan terjadi sintesis NO oleh enzim nNOS dalam jumlah lebih besar dan akan diikuti terbentuknya peroksinitrit yang merupakan oksidan yang poten.^{32,46,48,49}

Mekanisme iNOS menyebabkan disfungsi vaskuler masih belum jelas, diduga berkurangnya produksi NO oleh eNOS akibat penggunaan prekursor BH4 oleh iNOS dan mekanisme yang mungkin juga ekspresi iNOS di sel endotel menyebabkan terganggunya baik relaksasi maupun kontraksi, tetapi fungsi vasomotor normal bila

iNOS diekspresikan di adventia.⁵⁰ NO yang dihasilkan iNOS dengan cepat akan bereaksi dengan superoksid membentuk peroksinitrit. Peroksinitrit merupakan antioksidan yang poten yang mempunyai efek sitotoksik seperti kerusakan DNA, oksidasi LDL, nitrasi tirosin, inhibisi aconitase dan respirasi mitokondria. NO yang dihasilkan iNOS akan menyebabkan kematian sel endotel melalui mekanisme apoptosis, juga menyebabkan disfungsi endotel yang menghasilkan disregulasi vaskuler, vasokonstriksi dan mempercepat iskemik. Bagaimanapun juga NO diproduksi oleh iNOS mempunyai efek menguntungkan sebagai mekanisme pertahanan tubuh dengan kontribusinya membunuh bakteri. Penelitian pada tikus, dengan kadar nNOS dan iNos rendah, berkurangnya volume infark didapatkan setelah iskemia permanen fokal otak.^{32,46,48,49}

Respon sel endotel terhadap berbagai stimulus fisik atau kimia akan mengakibatkan diproduksinya substansi vasoaktif relaksasi(NO, endothelial derived hyperpolarizing factor, prostasiklin, adenosin, C natriuretic peptide) atau substansi vasoaktif kontraksi(angiotensin II, endothelin-1, tromboksan A2, isoprostan) yang mengatur tonus vaskuler, permeabilitas, homeostasis, angiogenesis dan inflamasi. Endotel vaskuler membentuk keseimbangan antara prevensi dan stimulasi agregasi trombosit, trombogenesis dan fibrinolisis, promosi dan inhibisi migrasi dan proliferasi sel otot polos dan antara vasokonstriksi dan vasodilatasi. Terganggunya keseimbangan substansi vasoaktif sel endotel vaskuler akan mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel.⁵¹



Gambar.4. Kerusakan jaringan akibat peroksinitrit dan superoksida⁴⁶

LDL teroksidasi (Ox LDL) dapat merusak sel endotel dan juga menyebabkan ekspresi molekul adhesi yang mengakibatkan migrasi monosit dan leukosit ke ruang subendotel. Kemudian akan diikuti terbentuknya sel busa yang akan mensekresi faktor pertumbuhan dan mengakibatkan pertumbuhan otot polos pembuluh darah ke intima.^{40,52}

Vitamin E merupakan antioksidan potensial pembasmi radikal bebas dan utamanya memproteksi PUFA yang merupakan substansi utama pada membran sel dan lipoprotein plasma. Diet harian vitamin E adekuat pada orang normal adalah 7 – 11 IU. Pemberian suplemen vitamin E pada pasien defisiensi vitamin E akan menaikkan kadarnya mencapai normal dalam jam dan apabila dihentikan akan menurun dalam level defisiensi dalam hitungan hari. Asam askorbat merupakan antioksidan larut dalam air yang utama dan juga berperan dalam *redox recycling* α

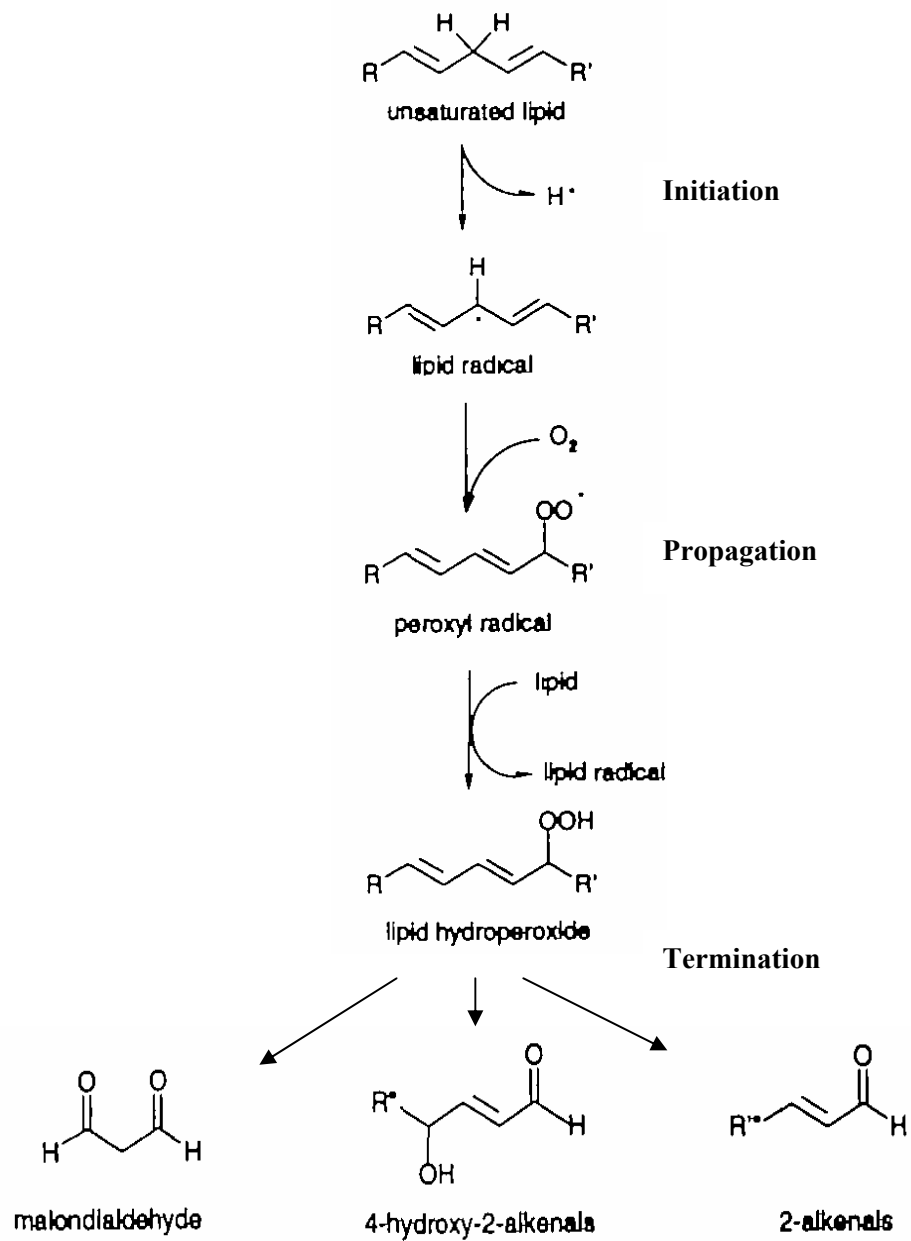
tokoferol. Diet harian vitamin C yang dianjurkan saat ini antara 30 – 100 mg/hari. Pada orang normal bukan perokok, waktu paruh menggunakan asam askorbat *radio isotope tracer* berbanding terbalik dengan dosis yang diberikan. Waktu paruh antara 8 – 40 hari dengan pemberian dosis 30 – 180 mg/hari. ^{53,54}

2.2.3. MDA sebagai hasil utama peroksidasi lipid akibat stres oksidatif

PUFA yang banyak terdapat pada membran sel menjadi target utama oksidan, karena sangat rentan terhadap terjadinya autokatalisis peroksidasi. Pada kondisi temperatur fisiologis abstraksi ion H selama fase propagasi jauh lebih siap pada bentuk PUFA daripada *monosaturated lipids*. Hal ini sebagai akibat terlepasnya ikatan dengan menggunakan energi yang rendah sebesar ~ 10 kcal/mol dibanding bentuk yang *monosaturated*. ⁵⁵ Adanya ikatan ganda pada jembatan metilen (-CH₂-) grup pada PUFA membuat lemah ikatan C-H pada atom karbon dan memfasilitasi lepasnya atom hidrogen. ¹⁸

Peroksidasi lipid merupakan suatu rangkaian reaksi yang terjadi dalam 3 fase. Diawali dengan fase inisiasi, dimana terjadi abstraksi ion H dari ikatan C-H lipid dengan paparan oksidan dan terbentuk *carbon centred lipid radical*. Kemudian diikuti dengan fase propagasi yang merupakan bagian yang kompleks, dimana radikal lipid dengan cepat mengalami penggabungan dengan O₂ dan terbentuk radikal peroksi. Reaksi kedua pada fase ini membuat peningkatan jumlah yang dramatis sehubungan dengan adanya abstraksi ion H dari lipid oleh radikal peroksi membentuk lipid hidroperoksida. Penggabungan O₂ dengan lipid radikal yang baru terbentuk menambah jumlah peroksidasi membran lipid. Disamping abstraksi ion H juga terjadi 3 reaksi penting lain yaitu fragmentasi, *rearrangement* dan *cyclizations*.

Akhirnya rangkaian peroksidasi lipid berakhir dengan satu atau lebih reaksi terminasi.⁵⁵

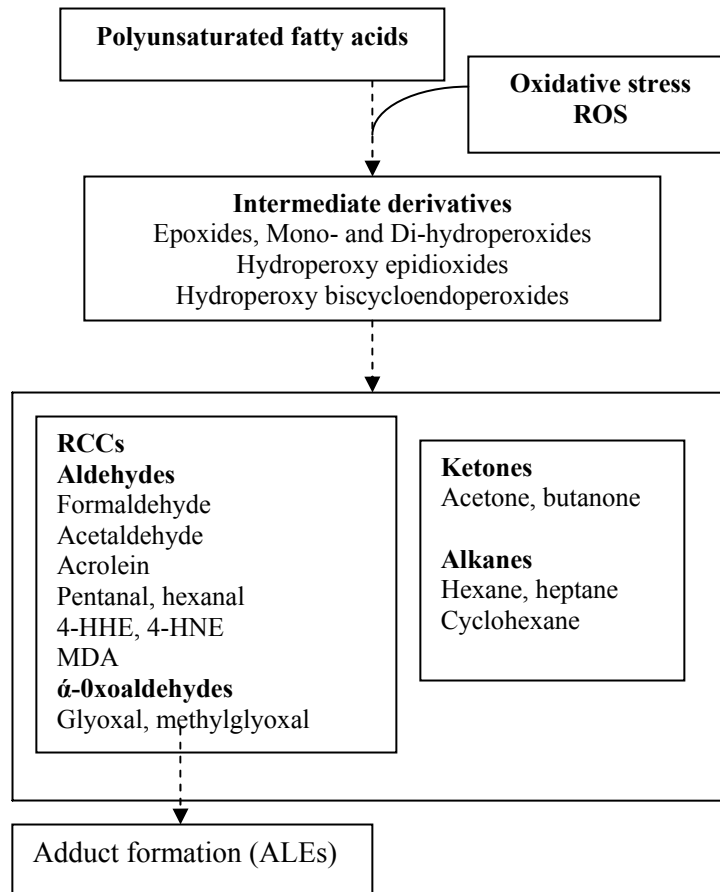


Gambar.5. Tiga fase reaksi berantai peroksidasi lipid⁵⁵

Alternatif lain propagasi radikal bereaksi dengan pembasmi radikal dan terbentuk non propagasi radikal yang terjadi akibat adanya transfer dari elektron tidak berpasangan mereka pada antioksidan. Tergantung struktur kimia prekursor lipid, berbagai produk terbentuk selama fase propagasi dan terminasi.⁵⁴ Hasil dari radikal asam lemak lebih stabil dengan terbentuknya diene terkonjugasi, kemudian diikuti terbentuknya produk yang lebih stabil seperti hidroperoksida, alkohol, aldehyd dan alkane. Banyak dari produk ini ditemukan dalam cairan tubuh. Kelompok karbonil yang terbentuk pada proses peroksidasi lipid berupa ; n alkenals (propanal, butanal, pentanal, heksanal dll), 2 alkenal (acrolein, pentenal, heksenal dll), 2-4 alkadienals (heptadienal, oktadienal, dekadienal), 4 hidroksi 2,5-undekadienal, 5 hidroksi oktanal, 4-hidroksi-2 alkenals, dan malondialdehyd. Komponen utama ditemukan dalam sampel biologis pada berbagai kompartemen cairan tubuh adalah MDA, heksanal, dan HNE.¹⁸

Produk peroksidasi lipid diinduksi oleh oksidan dan stres oksidatif menghasilkan produk dengan variasi yang luas, termasuk RCCs(*Reactive carbonyl compounds*) dan produk yang lebih stabil seperti keton dan alkane. RCCs seperti aldehyd dan dikarbonil, termasuk hidroksialkane, akrolein, MDA, glyoxal dan methylglyoxal, sebagai komponen biologis yang banyak dibahas. Aldehyd bereaksi dengan protein pada sel dan jaringan dan terbentuk *adducts protein* termasuk dalam kelompok ALEs (*advanced peroxidation end products*) yang akan menyebabkan disfungsi protein dan perubahan respon seluler. Kadar oksidasi dan bentuk *adduct*

protein dalam kondisi fisiologis adalah rendah dan meningkat dengan bertambahnya umur dengan penurunan pertahanan tubuh oleh antioksidan.⁵⁶

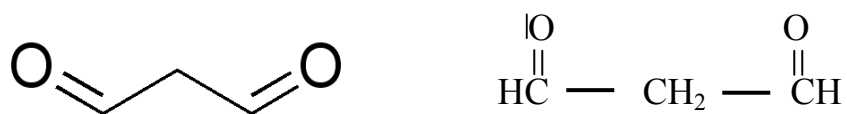


Gambar.6. Tahapan skematis peroksidasi lipid yang menghasilkan bentuk produk sekunder dan *adducts formations*⁵⁶

MDA merupakan hasil utama peroksidasi asam arakhidonat, eicosapentaenoic dan docosahexaenoic.⁵⁶ HNE juga merupakan produk yang dihasilkan oleh proses peroksidasi pada 2 PUFA yang banyak didapatkan (asam arakidonat dan linoleat), namun jumlah yang dihasilkan lebih sedikit dibanding MDA. Dimana produksi HNE 80 kali lebih rendah dibanding MDA pada beberapa sistem. MDA juga terbentuk

selama biosintesis eicosanoid biosintesis, seperti pada metabolisme prostatglandin H₂ oleh tomboksan atau prostasiklin.⁵⁵ Lipid hidroperoksida dan aldehid juga dapat diabsorpsi dari makanan, dimana beberapa makanan yang mengandung *MDA amino acid adduct* dapat diabsorpsi melalui usus dan diekskresi lewat urin.³⁷ Cara memasak makanan tertentu, seperti *deep fried food*, dapat mengandung bahan yang toksik dan karsinogenik dari produk lipid peroksidasi. Minyak teroksidasi dalam jumlah besar yang diberikan peroral dalam percobaan binatang tidak memberikan efek toksik akut, hal ini dimungkinkan buruknya absorpsi *polymeric oxidation product* diusus.⁵⁷

Efek sitotoksik pada kultur sel(pada sel fibroblas dan endotelial) berturut-turut berkurang 2,4 decadinal> hidroperoksida asam linoleat> 2,4 non adienal> HNE> 2 alkena(C6 – C9) > alkanals(C5,C6). Formaldehid, asetaldehid dan MDA mempunyai toksisitas lemah. Sebagai contoh fibroblas kulit yang diberi paparan 120 – 100mmol MDA tidak mengalami lisis, tetapi mereka menunjukkan perubahan morfologi, mikro dan multinuklear, pengurangan DNA,RNA dan sintesis protein.⁵⁷



Gambar.7. Rumus bangun MDA¹⁸

2.2.4. Malondialdehid sebagai petanda biologis stres oksidatif

Menurut NIH Biomarker Working Group (1998), definisi penanda biologis adalah suatu kharakteristik yang bisa diukur dan dievaluasi sebagai indikator proses biologis normal, proses patologis dan respon farmakologis terhadap intervensi terapi. WHO *International Programme on Chemical Safety* (ICPS) memberikan definisi

sebagai suatu substansi, struktur atau proses yang dapat diukur pada tubuh dan produk tersebut dapat berpengaruh atau memprediksi insiden keluaran atau penyakit. Sebagai perediktor suatu penyakit harus mempunyai validitas berupa sensitifitas, spesifisitas dan pengetahuan mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi. Faktor tambahan lain seperti tidak invasif dan *reproducible*.¹⁶

Validasi petanda biologis membutuhkan beberapa tahapan yang berbeda. Satu tahapan yang meliputi pengembangan prosedur, analisa referensi material, dan kontrol kualitas. Tahapan yang lain dengan melihat adanya perubahan konsentrasi petanda biologis menyebabkan perkembangan penyakit kemudian. Perkembangan terakhir mengenai petanda biologis, belum didapatkan yang memenuhi semua persyaratan yang ideal, hanya didapatkan yang satu lebih baik dari yang lainnya. Banyak petanda biologis stres oksidatif dan status antioksidan telah dievaluasi, tetapi hanya sedikit dilakukan validasi untuk mengetahui sensitifitas dan spesifisitas secara sistematis dengan menggunakan model binatang.¹⁶

BOSS (*Biomarker oxidative Stress study*) tahun 2002, merupakan penelitian terakhir yang secara lengkap dilakukan, yang disponsori dan diorganisir oleh *National Institute of Environmental Health Sciences* (NIEHS) di Amerika Serikat, yang merupakan penelitian komprehensif pertama untuk menilai beberapa *marker* stres oksidatif dengan model yang sama untuk menentukan petanda biologis yang tidak invasif, mempunyai spesifisitas, sensitifitas dan selektifitas terbaik. Dengan model pada tikus yang diberikan CCl_4 yang dapat menginduksi terbentuknya

kerusakan jaringan akibat radikal bebas. Efek kerusakan yang dilihat dari produk hasil peroksidasi lipid, protein dan DNA diukur dari sampel plasma darah dan urin, dan dinilai hubungannya dengan dosis dan waktu. Berbagai substansi yang diteliti meliputi lipid hidroperoksida, TBARS, MDA, isoprostan, protein karbonil, 8-*hydroxy-2-deoxyguanosine* (8-OhdG), *leukocyte DNA-MDA adduct* dan *DNA strand break*. Peneliti menyimpulkan kadar plasma MDA, kadar isoprostan dalam plasma dan urin, sebagai petanda biologis stres oksidatif yang reliabel.^{16,17}

MDA dan 4 hydroxynonenal (HNE) merupakan produk utama hasil oksidasi PUFA dan MDA merupakan salah satu yang paling sering digunakan sebagai indikator peroksidasi lipid.^{54,58-60} MDA juga digunakan secara luas sebagai petanda biologik stres oksidatif, sensitif, dan bisa digunakan pada penelitian dalam jumlah besar. MDA merupakan produk peroksidasi lipid yang relatif konstan terhadap proporsi peroksidasi lipid, oleh karena itu merupakan indikator yang tepat untuk mengetahui kecepatan (*rate*) proses peroksidasi lipid *in vivo*.^{18,46,58,60,61}

TBARS(*thiobarbituric acid reactive substances*) pada tubuh manusia bukan produk yang spesifik, dimana dapat bereaksi dengan aldehid yang lain termasuk MDA. Dengan metode HPLC/spektrofotometri yang dapat memisahkan ikatan MDA - TBA dengan kromogen pengganggu lainnya, sehingga akan meningkatkan sensitifitas, spesifitas dan *reproducibility*. Derivat ketiga spektrofotometri akan mengeliminasi interferensi substansi lain (alkana, 4-hidroksinonenal dan komponen biologis lain).^{16,46}

2.2.5. Malondialdehid pada penyakit stroke iskemik akut

Pada model penelitian iskemik sementara pada otak depan gerbil, dilakukan iskemia otak depan selama 10 menit. Setelah 6 jam reperfusi terdapat peningkatan bermakna kadar MDA, HNE dan lipid hidroperoksida pada kortek, striatum dan hipokampus. Peningkatan MDA muncul mulai jam ke 2 menetap lebih dari 3 hari reperfusi pada area yang peka di hipokampus.⁴⁸

Pada penelitian binatang yang bertujuan melihat eksitotoksisitas glutamat yang dapat menginduksi stres oksidatif pada otak tikus. Peningkatan kadar ekstraseluler glutamat pada otak dicapai dengan memberikan larutan glutamat atau *L-trans pyrrolidine-2,4-dicarboxylate* suatu kompetitif inhibitor uptake glutamat dengan teknik mikrodialisis pada tikus yang dilakukan anestesi. Didapatkan peningkatan kadar MDA berhubungan dengan dosis glutamat yang diberikan, bahkan secara dramatis meningkatkan kadar MDA sampai sebesar 20 kali lipat.⁶²

Weigand, Laipple, Plaschke, Eckstein, martin, Bardenheuer melakukan penelitian untuk mengetahui perbedaan kadar MDA pada arteri karotis dan vena jugularis pada pasien dengan stenosis arteri karotis yang menjalani operasi *endarterectomy*. Iskemia otak fokal diinduksi dengan cara melakukan sumbatan pada arteri karotis dengan teknik *Carotid cross – clamping* dan beratnya iskemia yang terjadi di monitor menggunakan *somatosensory evoked potentials* (SSEP). Pemasangan *shunt vascular* dilakukan bila terjadi hilangnya amplitudo SSEP total yang menunjukkan penurunan aliran darah regional $< 15 \text{ ml/100 gr otak/ menit}$.

Selama operasi juga dipasang kateter pada vena jugularis ipsilateral untuk mendapatkan sampel darah pada vena tersebut. Pada pasien dengan aliran darah kolateral yang adekuat (tidak dilakukan *shunt vascular*), tidak terdapat perbedaan kadar MDA pada arteri karotis komunis dan vena jugularis dan tetap stabil pada 10 menit setelah sumbatan dan 15 menit fase reperfusi. Pada pasien yang dipasang *shunt vascular*, perbedaan antara arteri dan vena meningkat , dimana saat sebelum sumbatan perbedaan kadar MDA baseline 34 ± 26 menjadi 130 ± 49 nmol/L pada saat akhir sumbatan dengan lama sumbatan rata-rata 6 ± 1 menit. Pada saat 15 menit reperfusi perbedaan meningkat 6 kali lipat sebesar $291 \pm 70,9$ nmol/L dengan $p < 0,05$.⁴⁷

Raevsky, Bashkatova, Lysko melakukan penelitian pada 50 pasien stroke iskemik pada area vaskularisasi A. Karotis dan dilihat kadar MDA dengan metode TBARS di LCS pada 2 – 6 jam onset stroke dan pada hari ketiga. Semua pasien stroke didapatkan peningkatan kadar TBARS, bahkan pada 3 – 6 jam setelah onset. Tidak didapatkan korelasi kadar TBARS pada hari pertama dengan derajat stroke, lokasi atau varian patogenik dari perkembangan stroke. Pada hari ketiga kenaikan kadar TBARS bermakna secara dominan pada pasien dengan defisit neurologis berat (skala orgogozo >40) dibanding dengan yang sedang (skala orgogozo 26-40). Perbandingan kadar TBARS dengan volume infark(MRI) pada hari pertama tidak didapatkan korelasi. Bagaimanapun juga didapatkan hubungan antara volume infark (MRI pada hari ke 5 – 7) dan perubahan kadar TBARS dalam 3 hari onset stroke. Akumulasi maksimal kadar TBARS (lebih dari $5,47 \pm 0,55\mu\text{m}$) berkorelasi dengan

volume infark terbesar ($29,7 \pm 1,6 \text{ cm}^3$). Ketika terjadi penurunan kadar TBARS , volume infark juga mengalami penurunan sesuai penurunan yang terjadi pada kadar TBARS.⁷

2.2.6. Pengukuran kadar malondialdehid.

MDA merupakan satu dari beberapa substansi dengan berat molekul ringan yang dihasilkan pada proses peroksidasi lipid. Banyak peneliti menemui kegagalan pengukuran MDA bebas. Hal ini diakibatkan kadarnya sangat rendah dan secara cepat bereaksi dengan grup amine dan thiol, serta dalam jaringan dimetabolisir oleh enzim aldehid dehidrogenase dan terbentuk asetil CoA, MDA juga dengan mudah diekskresi lewat urin.¹⁸

Conjugated atau *polymerized* MDA dapat terhidrolisa dalam medium asam dan labil dalam pemanasan. Metode TBARS menggunakan teknik kolorimetri dengan melihat perubahan warna, tetapi mempunyai hasil yang tidak spesifik ,oleh karena juga terukur aldehid yang lain. Hasil TBA –MDA mempunyai hasil yang lebih baik dengan menggunakan teknik fluorometri. Pemeriksaan yang lebih spesifik menggunakan metode *high performance liquid chromatography* (HPLC)/spektrofotometri, dan memenuhi kriteria akurasi, spesifisitas dan sensitivitas dan metode ini sebagai pilihan untuk evaluasi status stres oksidatif.¹⁸

Nilai normal MDA tergantung metode yang digunakan , lebih dari $4 \mu\text{mol/l}$ dengan mengukur TBAR dengan metode kolorimetri, kadar normal hingga $2,5 \mu\text{mol/l}$ dengan metode fluorometri, dan kadar $0,60 - 1 \mu\text{mol/l}$ dengan metode HPLC (*high performance liquid chromatography*) dan metode ini yang saat ini menjadi pilihan

untuk sebagai petanda biologis stres oksidatif. Dengan metode spektrofotometri dapat ditentukan kadar plasma MDA yang menunjukkan secara spesifik kadar plasma total dan memberikan hasil yang serupa dengan kadar yang didapat menggunakan HPLC, dengan koefisien variasi 1,2 – 3,4 %. Kadar MDA dengan metode spektrofotometri $1,04 \pm 0,43 \mu\text{mol/l}$. Penelitian di Berkeley dan Oakland California tahun (1999) pada 298 orang sehat umur antara 19 – 78 tahun, didapatkan perbedaan bermakna pada perokok, tetapi tidak didapatkan perbedaan bermakna dengan perbedaan umur, ras dan BMI (*body mass index*).^{16,18,46,63}

Sandra, Moser, Bagchi, Akubue, Stohs melakukan penelitian pada tikus jantan jenis sprague-dawley dengan pemberian ethanol yang dapat menginduksi stres oksidatif dan dinilai ekskresi asetaldehid, formaldehid, aseton dan MDA pada sampel urin. Pada pemberian dosis tunggal secara akut dengan dosis ethanol 5 gr/kg, terdapat peningkatan ekskresi MDA lewat urin 1,5 kali lipat mulai 18 jam dan tetap konstan sampai 48 jam setelah pemberian ethanol. Pada pemberian secara kronik peroral dengan dosis ethanol 0,5 gr/kg sampai 10 hari, peningkatan ekskresi kadar MDA lewat urin mulai meningkat pada hari kedelapan.⁶⁴

2.3. Keluaran klinis penyakit stroke iskemik akut.

2.3.1. Penilaian keluaran penyakit stroke iskemik akut.

Perkembangan klasifikasi keluaran penyakit stroke didasarkan adanya kenyataan defisit neurologis sering mengakibatkan gangguan fungsional (*impairment*), keterbatasan dalam aktifitas sehari-hari (*disability*), dan berpengaruh pada kualitas hidup. Pertimbangan pengukuran keluaran penyakit yang umumnya digunakan

adalah menggunakan *International classification of impairment, disabilities and handicaps* (ICIDH) dari WHO. Penilaiannya meliputi adanya *impairment*, disabilitas dan *handicap*. Terdapat revisi dari terminologi untuk disabilitas dan *handicap*, dimana diganti dengan istilah yang lebih positif berupa keterbatasan aktifitas dan restriksi dalam partisipasi.^{65,66}

Penilaian gangguan fungsional (*impairment*) merupakan penilaian yang secara praktis mendekati hubungannya dengan volume luasnya kerusakan otak, patofisiologi penyakit dan dapat menilai efektifitas obat yang dapat dilihat dengan berkurangnya kelainan atau gangguan fungsional yang terjadi. Jadi penilaian gangguan fungsional dimungkinkan sebagai penanda terbaik untuk prognosis. Dengan demikian, setiap studi penelitian memasukkan penilaian tingkat gangguan fungsional dan melihat dengan benar perbaikan fungsi neurologis yang telah terjadi. Bagaimanapun juga penilaian gangguan fungsional tidak dilakukan sebagai keluaran utama, disebabkan pasien lebih melihat aktifitas yang bisa dia lakukan dan penilaian aktifitas sehari-hari merupakan keluaran utama pada pasien stroke. Penilaian aktifitas sehari-hari lebih sederhana dan obyektif, tetapi terdapat kelemahan dimana terdapat hubungan yang lemah antara luasnya kerusakan (pada tingkatan patofisiologis) dengan aktifitasnya. Berbagai faktor dapat sebagai penyebab antara lain, DM, hipertermia, depresi dan dukungan orang lain (*social support*). Mayoritas dari instrumen yang digunakan untuk menilai gangguan fungsional valid dan reliabel. Penilaian tersebut adalah *modified Mathew scale*, *NIHSS*, *Scandinavian stroke scale*, skala orgogozo, *canadian neurological scale*, *Toronto stroke scale*, dll.⁶⁵

2.3.2. NIHSS

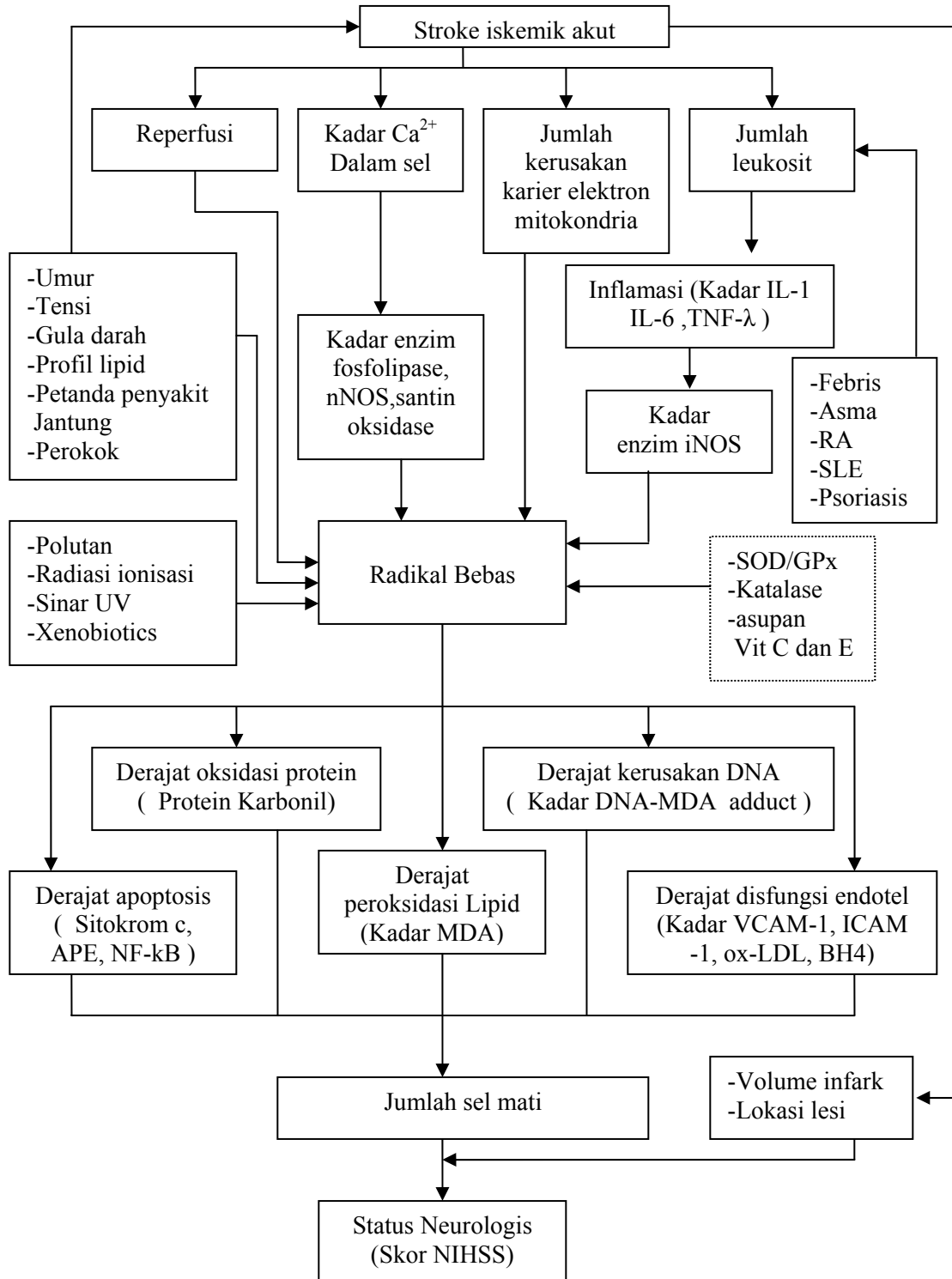
The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) adalah pengukuran kuantitatif pasien stroke berhubungan dengan kondisi klinis pasien stroke, yang merupakan penilaian terhadap status neurologis. Penilaian status neurologis berdasar NIHSS memiliki keunggulan dibandingkan dengan skala status neurologis lainnya, karena cakupan NIHSS cukup luas sehingga penilaiannya dapat menggambarkan fungsi otak secara keseluruhan. Adapun pemeriksaan status neurologis tersebut meliputi tingkat kesadaran, bahasa, neglek, lapangan pandang, gerakan otot ekstra okuler, kekuatan motorik, ataksia, disartria, dan gangguan sensorik.^{67,68} Untuk penggolongan secara klinis dapat digolongkan dengan batasan nilai >25 sangat berat, 16 – 25 berat, nilai 5 – 15 sedang, < 5 ringan.⁶⁹

NIHSS *reproducible*, mudah dilakukan, dan cepat / tidak memerlukan waktu yang lama (10 menit) dan berkorelasi dengan volume infark dan keluaran fungsional 3 bulan setelah stroke. NIHSS dapat digunakan pada perawatan akut, screening, penilaian formal dan untuk monitoring. NIHSS terbukti reliabel dan valid untuk menilai keluaran jangka panjang (*longterm outcome*).^{68,69}

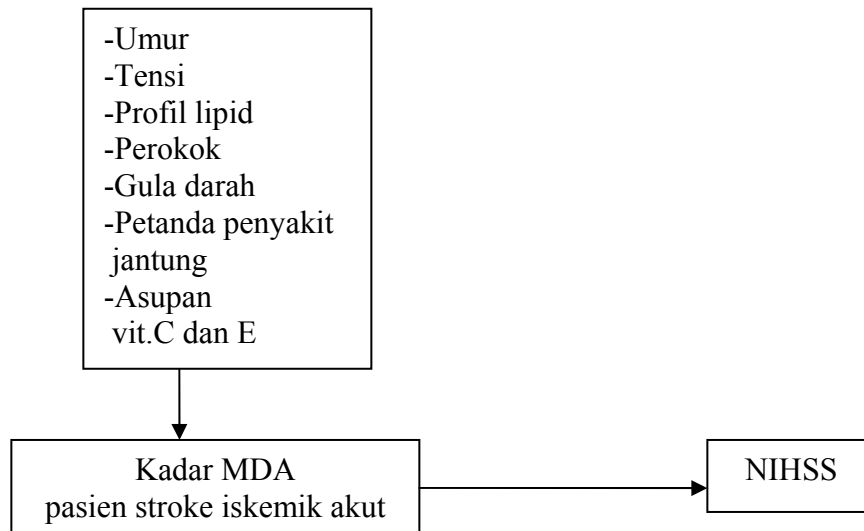
Saver, Johnston, Homer, Wityk, Koroshetz, Truskowski dkk (1999) mendapatkan bahwa volume infark yang diperiksa menggunakan CT Scan pada awitan stroke hari ke-6 – ke-11 mendapatkan adanya korelasi positif ($r=0,56$) dengan skor NIHSS.⁷⁰ Johnston, Wagner, Haley, Connors (2002) dengan menggunakan pemeriksaan CT Scan pada 1 minggu awitan stroke mendapatkan adanya korelasi positif (0,64) dengan skor NIHSS. NIHSS merupakan prediktor keluaran, akan tetapi

volume infark tidak merupakan prediktor keluaran 3 bulan.⁷¹ Fink, Selim, Kumar, siver, Livante, Caplan dkk.(2002) dengan menggunakan pemeriksaan *perfusion weight* MRI, pasien dengan lesi serebral sisi kanan mempunyai nilai skor NIHSS lebih rendah dibanding sisi kiri bila dibandingkan volume lesi yang didapatkan.⁷² Fischer, Arnold, Nedeltchev, Brekenfeld, Ballinari, Remonda dkk.(2005) mendapatkan skor NIHSS pada oklusi pembuluh darah area basiler, A. karotis interna, A. Serebri media (oklusi sentral) lebih tinggi dari pada didaerah yang lebih perifer.⁷³

2.4. Kerangka teori



2.5. Kerangka Konsep



2.6. Hipotesis

Pada stres iskemik akut terdapat stres oksidatif, di mana dapat mengakibatkan kerusakan sel melalui proses peroksidasi lipid. MDA merupakan produk utama hasil peroksidasi lipid dan meningkat pada penderita stroke iskemik akut, sehingga hipotesis penelitian kami sebagai berikut :

1. Ada hubungan kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk (awitan < 48 jam) dan awitan hari ke-5.
2. Ada hubungan kadar MDA plasma darah tepi kategori normal atau lebih dari normal dengan keluaran klinis kategori ringan atau sedang – berat penderita stroke iskemik akut saat masuk (awitan < 48 jam) dan hari ke-5.
3. Ada hubungan kadar MDA plasma darah tepi kategori normal atau lebih dari normal saat masuk (awitan < 48 jam) dengan keluaran klinis kategori ringan atau sedang – berat awitan hari ke-5 pada penderita stroke iskemik akut.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

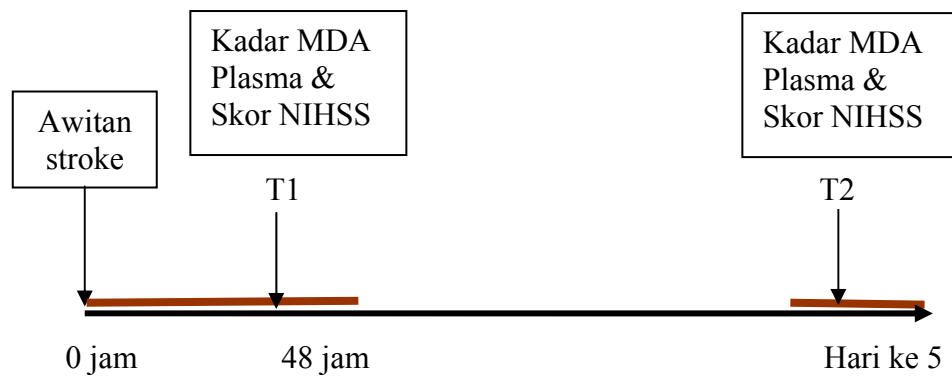
3.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian adalah ilmu penyakit syaraf

Tempat penelitian dilakukan di Bangsal Rawat Inap UPF Penyakit Syaraf RSUP. Dr. Kariadi Semarang pada periode bulan Juni 2007 – Januari 2008.

3.2. Rancang bangun penelitian

Jenis penelitian observasional dengan pendekatan kohort untuk mengetahui hubungan kadar MDA dengan keluaran klinis stroke iskemik akut.



3.3. Populasi dan sampel

3.3.1. Populasi target

Populasi target adalah penderita stroke iskemik akut

3.3.2. Populasi terjangkau

Populasi terjangkau adalah penderita stroke iskemik akut yang dirawat di Bangsal Rawat Inap UPF Penyakit Syaraf RSUP. Dr. Kariadi Semarang

3.3.3. Sampel

Sampel penelitian adalah penderita stroke iskemik akut yang dirawat di Bangsal Rawat Inap UPF Penyakit Syaraf RS.Dr. Kariadi Semarang yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian.

Kriteria Inklusi

1. Pasien stroke iskemik akut pria maupun wanita, umur ≥ 14 tahun dengan awitan saat masuk untuk dirawat di instalasi rawat inap RSUP.Dr. Kariadi Semarang kurang dari 48 jam.
2. CT Scan kepala tidak didapatkan gambaran hiperden, massa atau infeksi.
3. Stroke pertama kali.
4. Suhu tubuh normal
5. Pasien / keluarga setuju sebagai peserta penelitian.

Kriteria Eksklusi :

Dengan anamnesis mengenai riwayat penyakit sebelumnya, dan atau pemeriksaan fisik dan atau hasil EKG ditemukan kelainan akan dilakukan eksklusi pada penyakit-penyakit atau kondisi berikut ini :

1. Asma akut
2. Penyakit jantung koroner akut, dekompensasi kardiak akut dan atrial fibrilasi.
3. Psoriasis.
4. Sistemik lupus eritematosus / SLE.

5. Rheumatoid arthritis.
6. Plasma keruh atau hiperemik.
7. Penderita meninggal dalam waktu penelitian.

3.4. Besar sampel

Besar sampel dihitung menggunakan rumus besar sampel untuk koefisien korelasi dengan perkiraan koefisien korelasi (r) 0,5 dengan tingkat kemaknaan 95% dan power 90%.

Rumus yang digunakan :

$$N = \left[\frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln [(1+r) / (1-r)]} \right]^2 + 3 = 37,8 = 38$$

$$Z\alpha = 1,96 \quad Z\beta = 1,282 \quad r = 0,5$$

Dengan memperhitungkan kemungkinan adanya drop out sebesar 10%, maka besar sampel minimal adalah :

$$\begin{aligned} N &= n / (1 - f) \\ &= 38 / 0,9 = 42,22 = 43 \end{aligned}$$

3.5. Cara sampling

Pemilihan subyek penelitian dilakukan dengan metode *consecutive sampling*, pasien yang datang dan dirawat di Bangsal Penyakit Saraf RS.Dr. Kariadi Semarang yang memenuhi kriteria penelitian dipergunakan sebagai subyek penelitian. Pengambilan sampel dilakukan sampai jumlah sampel minimal terpenuhi.

3.6. Variabel penelitian

1. Variabel bebas : kadar plasma MDA darah tepi

2. Variabel terikat : skor NIHSS dengan pembagian :

- Defisit neurologis ringan (Skor NIHSS < 5)
- Defisit neurologis sedang - berat (Skor NIHSS \geq 5)

3. Variabel pengganggu yaitu umur, hipertensi, dislipidemi, perokok, penyakit jantung, DM dan asupan vitamin E dan C sebelum dan setelah stroke.

Definisi operasional variabel

No.	Variabel	Batasan operasional	Instrumen	Skala
1.	Stroke iskemik akut	Tanda-tanda klinis stroke iskemik dengan awita \leq 48 jam, CT Scan tidak ada lesi hiperden atau gambaran tumor otak.	CT Scan	Nominal
2.	Kadar MDA	Kadar MDA plasma darah tepi (darah vena vena mediana cubiti) dan diperiksa dengan metode Spektrofotometri dan dinyatakan dengan satuan $\mu\text{mol/l}$	Bioxytech MDA Nomor ketalog 21104	Numerik
3.	Tensi	Tekanan darah yang dinyatakan dalam sistole dan diastole, disebut hipertensi bila : TD sistole $>140\text{mmhg}$ dan diastole $> 90\text{ mmhg}$ dan atau terdapat retinopati hipertensif	-Tensi meter merk Anova -Funduskopi	Nominal
4.	Profil lipid	Kenaikan lipid darah ditandai dengan kadar kolesterol total $>200\text{mg/dl}$ dan atau trigliserida $>200\text{mmhg}$ dan atau LDL $>130\text{mmhg}$	Laboratorium : kholesterol total, LDL dan trigliserida	Numerik
5.	Gula darah	Gula darah adalah kadar gula dalam darah yang dinyatakan dengan satuan mg/dl, dinyatakan DM bila : -GD puasa $>126\text{ mg/dl}$ -Dan atau riwayat menderita DM yang dinyatakan oleh penderita atau keluarga,serta	-kuesioner -Laborat : GD Puasa -Funduskopi	Nominal

		mendapat terapi DM -Dan atau adanya retinopati diabetika		
6.	Perokok	Bila dalam 1 tahun terakhir merokok > 20 batang perhari	Kuesioner	Nominal
7.	Petanda penyakit jantung	-Terdapat riwayat nyeri dada kiri , dinyatakan penyakit jantung oleh dokter dan mengkonsumsi obat untuk penyakit jantung koroner dan atau adanya tanda penyakit jantung koroner pada pemeriksaan EKG -Terdapat riwayat sesak nafas malam hari, bengkak di kaki , sesak saat beraktifitas dan atau dinyatakan menderita sakit jantung oleh dokter dan atau mengkonsumsi obat untuk payah jantung dan atau terdapat kardiomegali pada foto thorak	Kuesioner	Nominal
8.	Skor NIHSS	Dengan penilaian derajat kesadaran, menjawab pertanyaan, mengikuti perintah, gerakan mata konjugat horisontal, lapangan pandang pada tes konfrontasi, paresis wajah, motorik lengan kanan, motorik lengan kiri, motorik tungkai kanan, motorik tungkai kiri, ataksia anggota badan, sensorik, bahasa terbaik, disartria, neglek / tidak ada atensi.	Kuesioner	Numerik
9.	Asupan Vit. C dan E	Asupan rata rata per hari vitamin E dan C sebelum stroke menggunakan metode <i>food frequency questionnaire</i> dan saat mulai dirawat sampai hari ke 5 awitan stroke menggunakan metode diet harian(<i>dietary intake</i>) .	Kuesioner : - <i>Food frequency questionnaire</i> - Metode riwayat makan harian	Numerik

3.7. Cara pengumpulan data

Data primer dengan mengukur beberapa karakter (umur, perokok, DM, hipertensi, penyakit jantung, profil lipid, asupan vit C dan E didapatkan dengan anamnesis menggunakan kuesioner, pemeriksaan fisik, funduskopi, EKG, laboratorium: GD puasa, kolesterol, trigliserida, LDL. Defisit neurologis diperiksa menggunakan *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS) pada waktu yang sama saat pasien diambil darah vena untuk pemeriksaan kadar MDA . Penilaian skor NIHSS dan kadar MDA plasma dilakukan pada saat masuk (kurang dari 48 jam awitan stroke) dan hari ke-5. Sampel darah untuk pengukuran kadar MDA diambil dari vena mediana cubiti sebanyak 5 cc, dilakukan pengukuran kadar MDA dengan metode spektrofotometri dengan panjang gelombangnya 532 nm dengan metode Pyles dkk.⁷⁴ dengan menggunakan alat Bioxytech MDA nomor ketalog 21044. Pasien dikelola sesuai protap yaitu asam asetil salisilat 2 x 160 mg/hari, pentoxifilin 15 mg/BB/hari dan piracetam 4 x 3 gram/hari selama 5 hari pertama selanjutnya 2 x 1200 mg/hari

3.8. Analisis data

Data yang diperoleh dilakukan *cleaning*, di kode dan ditabulasi dan selanjutnya *dientry* kedalam komputer. Data yang berskala kontinyu seperti kadar MDA, Skor NIHSS, dan sebagainya akan diekspresikan sebagai rerata dan simpang baku bila distribusi data normal atau median bila distribusinya tidak normal. Data yang berskala jenis kelamin, katagori skor NIHSS dan sebagainya akan dinyatakan sebagai distribusi frekuensi dan proporsi.

Uji hipotesis yang digunakan pada penelitian ini uji korelasi Rank Spearman untuk mengetahui hubungan antara kadar MDA plasma darah tepi dan skor NIHSS saat masuk dan juga untuk mengetahui hubungan kadar MDA plasma darah tepi dan skor NIHSS dan pada hari ke- 5.

Pada penelitian ini juga diukur perbedaan rerata kadar MDA plasma darah tepi saat masuk dengan hari ke-5 menggunakan uji Wilcoxon. Untuk mengetahui hubungan kadar MDA berdasarkan katagori normal $\leq 1 \mu\text{mol/l}$ dan lebih tinggi dari normal $> 1 \mu\text{mol/l}$ dengan keluaran klinis hari ke-5 berdasarkan katagori ringan (skor NIHSS < 5) dan sedang-berat (Skor NIHSS ≥ 5) digunakan uji Chi-Square.

3.9. Etika penelitian

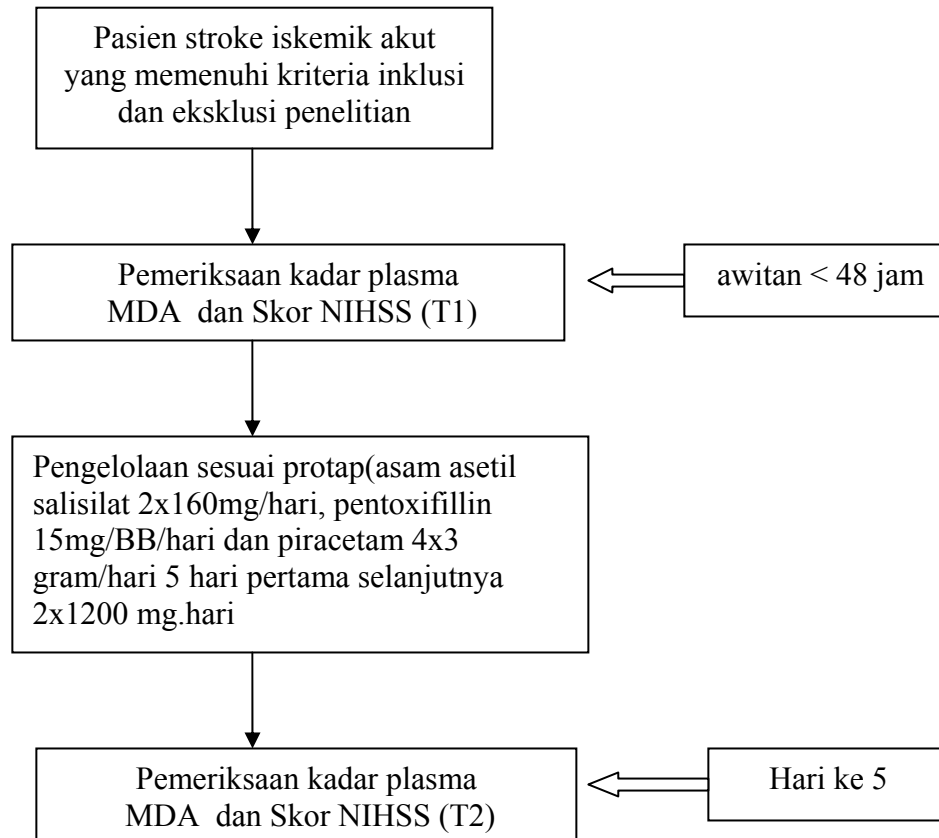
1. Semua subyek pada penelitian ini memberikan persetujuan tertulis yang menyatakan kesediaannya mengikuti penelitian
2. Subyek penelitian diberi penjelasan tentang maksud dan tujuan penelitian
3. Terhadap subyek penelitian tetap diutamakan pelayanan dengan selalu mengindahkan tata cara etika yang berlaku
4. Semua biaya dalam penelitian ini menjadi tanggung jawab peneliti
5. Jika terjadi komplikasi dalam pengambilan sampel darah maka segala biaya dalam penanganannya akan dibebankan kepada peneliti.

3.10. Keterbatasan penelitian

1. Faktor-faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas dalam tubuh tidak dapat kami evaluasi seperti paparan polutan, sinar

ultraviolet, radiasi terionisasi, dan degenerasi sel tubuh, di mana seberapa besar paparan polutan, sinar ultraviolet, radiasi ionisasi dan proses degenerasi dalam tubuh yang terjadi sukar kami lakukan penilaian yang benar pada sampel penelitian kami.

2. Jumlah sel mati secara pasti pada penderita sukar dilakukan penilaian, namun dapat diprediksi dari volume infark yang terjadi. Lokasi lesi berpengaruh pada keluaran klinis penderita. CT Scan < 48 jam awitan sering tidak ditemukan kelainan dan batas infark belum jelas, sehingga sukar menilai volume infark dan hasil pemeriksaan CT Scan > 48 jam tidak selalu menunjukkan volume infark yang terjadi sebelumnya.

Alur penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1. Kharasteristik subyek penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam waktu 6 bulan, antara bulan agustus 2007 sampai dengan januari 2008 di Instalasi Rawat Inap Bagian Penyakit Saraf RSUP.Dr.Kariadi Semarang. Dalam kurun waktu tersebut didapatkan 49 penderita dengan stroke iskemik akut yang memenuhi kriteria penelitian. Terdapat 6 penderita *drop out* (4 dengan febris, 1 dengan gagal jantung akut, 1 dengan gagal ginjal akut), sehingga dijumpai 43 orang penderita yang dapat dilaksanakan sampai akhir penelitian.

Tabel 1. Karasteristik umum subyek penelitian

Karasteristik umum	
Umur(tahun)	Rerata 60,5(10,65)
Jenis kelamin :	
- Pria	30(69,8%)
- Wanita	13(30,2%)
Faktor risiko stroke :	
- Hipertensi(HT)	25(58,14%)
- Diabetes mellitus(DM)	3(6,98%)
- Perokok	1(2,33%)
- HT dan DM	4(9,30%)
- HT dan Penyakit jantung	5(11,62%)
- HT dan Perokok	3(6,98%)
- HT,DM dan Penyakit Jantung	1(2,33%)
- Tidak didapatkan faktor resiko	1(2,33%)

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa dari 43 penderita dengan stroke iskemik akut yang menjadi subyek penelitian 30 orang (69,8%) adalah laki-laki dan 13 orang (30,2%) perempuan. Rerata umur penderita adalah 60,5 (\pm 10,65 tahun), usia termuda 38 tahun dan yang tertua 77 tahun. Faktor risiko yang didapatkan pada subyek penelitian adalah hipertensi, perokok, jantung dan DM. Hipertensi adalah faktor risiko tunggal yang terbanyak didapatkan pada 25 orang (58,14%) penderita dan pada semua sampel penelitian didapatkan pada 38 orang (88,37%) penderita, sedangkan 1 orang penderita tidak didapatkan adanya faktor resiko. Faktor risiko lebih dari satu pada satu orang penderita paling banyak adalah adanya penyakit hipertensi dan jantung, terdapat pada 5 orang (11,62%) penderita.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan tanda vital penderita stroke iskemik akut saat masuk untuk dirawat di RS. Dr. Kariadi Semarang

Tanda vital	Rerata(SD)	Minimum	Maksimum
Sistolik	174,1(29,89)	110	250
Diastolik	103,6(18,05)	80	150
Kesadaran(GCS)	14,7(0,862)	11	15

Data pada tabel 2 menunjukkan rerata (SD) tekanan sistolik 174,1 (29,89) mmHg, sedangkan tekanan diastolik 103,6 (18,05) mmHg. Kesadaran yang dinilai dengan GCS didapatkan rerata 14,7(0,862), dengan nilai GCS terendah 11 sebanyak 1 orang, GCS 13 sebanyak 4 orang dan nilai GCS 15 sebanyak 38 orang.

Data pada tabel 3 menunjukkan rerata kadar Hb penderita masih dalam batas normal(13,6 mmHg). Berdasarkan katagori Hb dijumpai 10 penderita (23,3%) dikategorikan anemia (Hb<12 g/dl). Rerata kadar hematokrit(Ht) penderita juga

masih dalam batas normal(40,03%). Berdasarkan katagori Ht dijumpai 4 penderita (9,30%) dengan hemokonsentrasi ($Ht > 47\%$). Rerata gula darah sewaktu penderita masih dalam batas normal (143,5 mg/dl). Berdasarkan katagori gula darah sewaktu dijumpai 4 penderita (9,30%) mempunyai gula darah > 200 mg/dl. Rerata kadar kolesterol dan trigliserida dan LDL masih dalam batas normal. Berdasarkan katagori lemak darah dijumpai 14 penderita (32,56%) dengan hiperkolesterolemia, 8 penderita (18,60%) dengan hipertrigliserida dan 14(13,56%) penderita dengan kadar LDL > 130 mg/dl.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan laboratorium darah penderita stroke iskemik akut pada saat masuk di rawat di RS. Dr. Kariadi Semarang.

Jenis pemeriksaan laboratorium	Rerata(SD)	Minimum	Maksimum
Hb(g/dl)	13,44(1,7845)	8,9	17,5
Ht(%)	40,03(4,8362)	28,1	48,1
Gula darah sewaktu(mg/dl)	143,5(69,585)	94	390
Kolesterol(mg/dl)	195,4(34,717)	110	285
Trigliserida(mg/dl)	139,7(76,845)	59	421
LDL(mg/dl)	123,5(29,135)	72	194

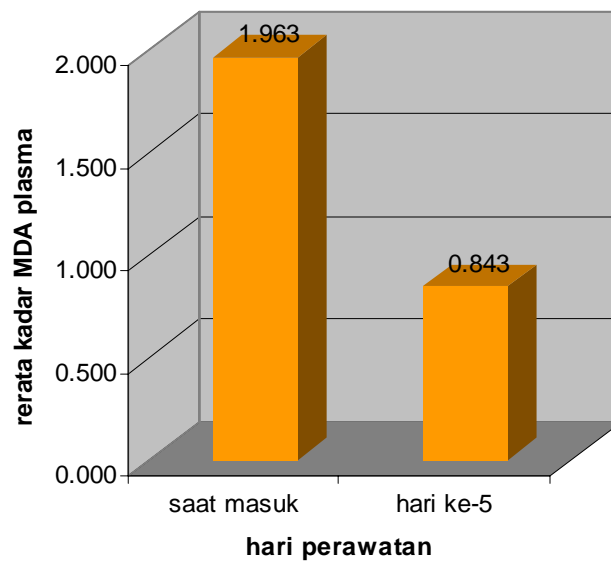
Data pada tabel 4 menunjukkan rerata asupan vitamin C sebelum dan setelah stroke terdapat dalam batas diet harian yang dianjurkan 30 – 100 mg perhari. Rerata asupan vitamin E sebelum dan setelah stroke lebih rendah dari diet harian yang dianjurkan 7 – 11 IU.

Tabel 4. Hasil pengukuran asupan vitamin E dan C sebelum dan setelah menderita stroke

Asupan vitamin	Rerata(SD)	Minimum	Maksimum
Kadar vitamin C (mg) :			
-Sebelum stroke	147,5(39,984)	26	241
-Setelah stroke	60,4(24,908)	6	102
Kadar vitamin E (IU) :			
-Sebelum stroke	1,51(0,7192)	0,42	2,99
-Setelah stroke	1,41(0,5557)	0,33	2,83

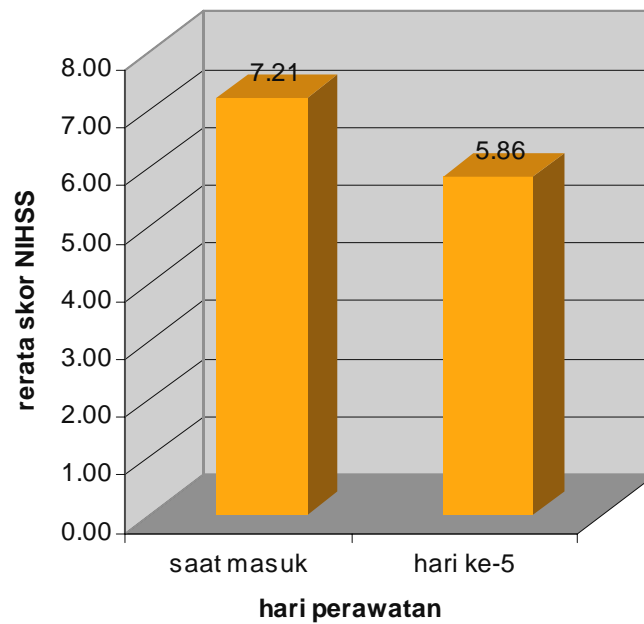
4.2. Kadar MDA dan skor NIHSS

Dari hasil pemeriksaan kadar MDA plasma, didapatkan nilai rerata untuk MDA saat masuk adalah $1,963 \pm 1,6580 \mu\text{mol/l}$, dengan nilai minimal 0,15 dan nilai maksimal 5,94, sedangkan nilai rerata untuk kadar MDA plasma hari ke-5 adalah $0,843 \pm 0,8783 \mu\text{mol/l}$, nilai minimal 0,09 dan nilai maksimal 3,55. Hasil uji normalitas data membuktikan bahwa distribusi data untuk variabel kadar MDA saat masuk dan kadar MDA hari ke-5 tidak normal ($p < 0,05$; Saphiro Wilk). Rerata skor NIHSS saat masuk $7,21 \pm 3,979$ dengan nilai minimal 2 dan nilai maksimal 15, sedangkan nilai rerata skor NIHSS hari ke-5 adalah $5,86 \pm 4,518$ dengan nilai minimal nol dan nilai maksimal 17. Hasil uji normalitas data membuktikan bahwa distribusi data untuk variabel skor NIHSS saat masuk dan skor NIHSS hari ke-5 tidak normal ($p < 0,05$; Saphiro Wilk).



Gambar.8. Rerata kadar MDA plasma darah tepi saat masuk dan hari ke-5 penderita stroke iskemik akut

Pada gambar. 8. menunjukkan bahwa rerata kadar MDA saat masuk lebih tinggi dari pada hari ke-5. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara rerata kadar MDA plasma saat masuk dan hari ke-5. ($p=0,0001$; uji Wilcoxon sign rank test). Rerata skor NIHSS pada hari ke-5 perawatan adalah lebih rendah dibanding pada saat masuk untuk dirawat. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan bermakna antara skor NIHSS pada saat masuk dan hari ke-5 ($p=0.0001$; uji Wilcoxon sign rank test), seperti ditampilkan pada gambar.9.



Gambar.9. Rerata Skor NIHSS saat masuk dan hari ke-5 penderit stroke iskemik akut

4.3. Variabel perancu dan kategori skor NIHSS hari ke-5

Semua variabel, baik variabel kategori kadar MDA atau variabel perancu dalam penelitian ini dengan menggunakan uji multipel logistik regresi tidak berhubungan dengan berat-ringannya keluaran klinis hari ke-5, seperti yang ditunjukkan pada tabel.5.

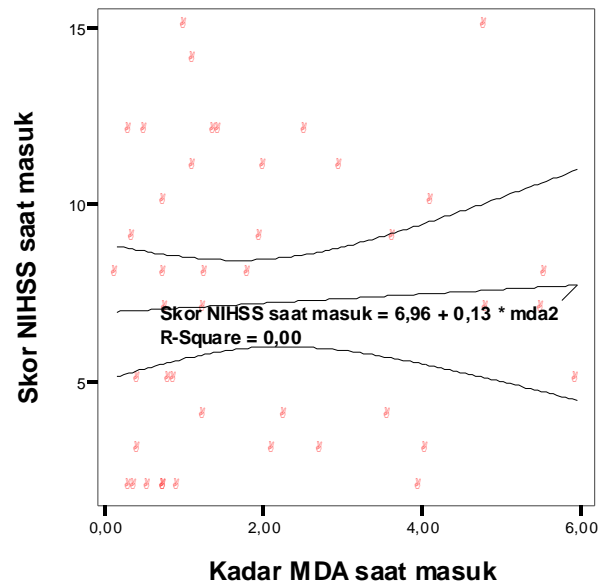
Tabel. 5. Hubungan antara variabel-variabel perancu dengan kategori berat – ringan keluaran klinis hari ke-5 menggunakan uji multipel logistik regresi.

Variabel perancu dan kategori MDA saat masuk	$p^{*)}$
Kategori MDA saat masuk	0,998
Umur	0,659
Hipertensi	0,998
DM	0,585
Perokok	0.999
Penyakit jantung	0,104
Asupan Vit.C sebelum stroke	0,178
Asupan Vit.E sebelum stroke	0,757
Asupan Vit.C setelah stroke	0,194
Asupan Vit.E setelah stroke	0,280
Kolesterol	0,733
Trigliserid	0,339
LDL	0,872

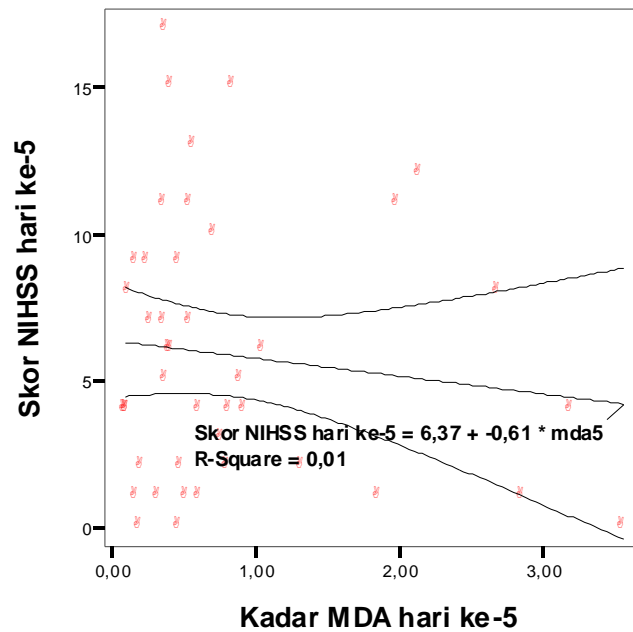
4.4. Hubungan kadar MDA dan skor NIHSS

Hubungan kadar MDA dengan skor NIHSS pada saat masuk untuk dirawat dengan menggunakan uji Rank Spearman menunjukkan adanya korelasi positif sangat lemah ($p=0,404$, $r=0,130$). Hubungan kadar MDA dan skor NIHSS saat masuk ditampilkan pada gambar 10.

Hubungan kadar MDA plasma darah tepi dan skor NIHSS pada hari ke-5 perawatan dengan uji korelasi Rank Spearman menunjukkan adanya korelasi negatif sangat lemah ($p = 0,784$, $r = -0,030$). Hubungan kadar MDA dan skor NIHSS hari ke-5 perawatan ditampilkan pada gambar 11.



Gambar.10. Hubungan antara kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk.

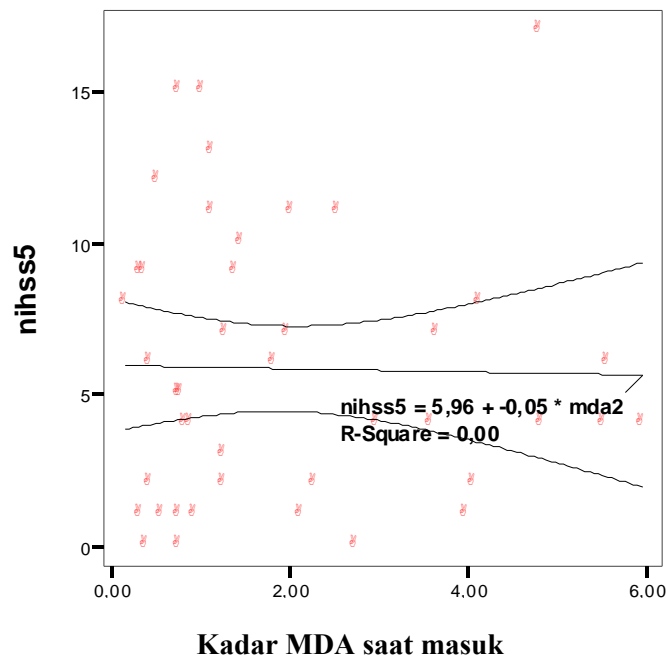


Gambar.11. Hubungan antara kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS penderita stroke iskemik akut awitan hari ke-5.

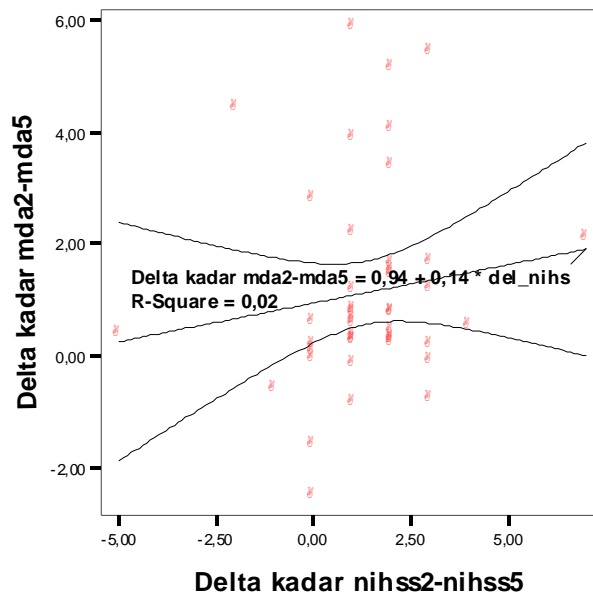
Hubungan kadar MDA saat masuk untuk dirawat dengan skor NIHSS hari ke-5 dengan uji korelasi Rank Spearman menunjukkan adanya korelasi negatif sangat lemah ($p=0,883$, $r=0,023$), seperti ditampilkan pada gambar.12.

Hubungan perubahan kadar MDA (selisih kadar MDA saat masuk dan hari ke-5) dengan perubahan skor NIHSS (selisih skor NIHSS saat masuk dan hari ke-5) didapatkan adanya korelasi positif sangat lemah ($p=0,395$, $r=0,133$), seperti ditampilkan pada gambar.13.

Demikian juga hubungan kadar MDA saat masuk untuk dirawat dengan kesadaran (GCS) awal menggunakan uji Rank Spearman menunjukkan adanya korelasi negatif sangat lemah ($p=0,743$, $r=-0,051$).



Gambar.12. Hubungan antara kadar MDA plasma darah tepi saat masuk dengan skor NIHSS awitan hari ke-5 penderita stroke iskemik akut.



Gambar.13. Hubungan antara selisih kadar MDA plasma darah tepi dengan selisih skor NIHSS penderita stroke iskemik akut saat masuk dan awitan hari ke-5.

4.5. Kadar MDA dan skor NIHSS berdasarkan kategori defisit neurologis.

Jumlah penderita stroke iskemik akut dengan defisit neurologis ringan (skor NIHSS < 5) saat masuk (awitan < 48 jam) sebanyak 14 penderita (32,6%), sedangkan yang dengan defisit neurologis sedang - berat (skor NIHSS \geq 5) adalah 29 penderita (67,4%). Pada hari ke-5 jumlah penderita dengan defisit neurologis ringan menjadi 21 penderita (48,8%), sedangkan yang dengan defisit neurologis sedang - berat berkurang menjadi 22 penderita (51,2%). Jumlah penderita dengan defisit neurologis ringan atau sedang-berat pada saat masuk dan hari ke-5, ditampilkan pada tabel.6.

Tabel.6. Jumlah penderita berdasarkan kategori keluaran klinis ringan atau sedang-berat pada saat masuk dan hari ke-5.

Waktu perawatan	Jumlah penderita	
	Sedang – Berat (skor NIHSS ≥ 5)	Ringan (skor NIHSS < 5)
Saat masuk	29(67,4%)	14(32,4%)
Hari ke-5	22(51,2%)	21(48,85)

Untuk kepentingan klinis dengan patokan kadar normal MDA $1,04 \pm 0,43$ $\mu\text{mol/l}$, dilakukan pengelompokan kadar MDA menjadi dua, yakni lebih dari 1 $\mu\text{mol/l}$ dan kurang atau sama dengan 1 $\mu\text{mol/l}$. Sedangkan untuk variabel skor NIHSS, dilakukan pengelompokan menjadi kategori sedang-berat (skor ≥ 5) dan kategori ringan (skor < 5).

Tabel.7. Hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis awitan hari ke-5 menggunakan uji Chi-Square

Kategori kadar MDA saat masuk	Berat-ringan keluaran klinis hari ke-5		$p^*)$
	Sedang – Berat (skor NIHSS ≥ 5)	Ringan (skor NIHSS < 5)	
$> 1 \mu\text{mol/l}$	14 (53,8%)	12 (46,2%)	0,902
$\leq 1 \mu\text{mol/l}$	8 (47,1%)	9 (52,9%)	

RR= 1,144 , *Confidence interval* (CI)= 0,617 – 2,121

Pada tabel 7 dengan uji Chi-square menunjukkan tidak ada hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk maupun hari ke-5 berdasarkan kategori normal (≤ 1 $\mu\text{mol/l}$) atau lebih tinggi dari normal (> 1 $\mu\text{mol/l}$) dengan keluaran klinis stroke iskemik akut kategori sedang-berat (skor NIHSS ≥ 5) atau kategori ringan (skor NIHSS < 5) pada hari ke-5 perawatan dengan RR= 1,114 dan interval

kepercayaan 0,617 – 2,121, kadar MDA lebih dari normal ($>1 \mu\text{mol/l}$) tidak memberikan risiko akan terjadinya keluaran klinis sedang – berat pada hari ke-5.

Tabel .8. Hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis saat masuk menggunakan uji Chi-square

Kategori kadar MDA saat masuk	Berat-ringannya keluaran klinis saat masuk		$p^*)$
	Sedang – Berat (skor NIHSS ≥ 5)	Ringan (skor NIHSS < 5)	
$> 1 \mu\text{mol/l}$	19(73,1%)	7(26,9%)	0,521
$\leq 1 \mu\text{mol/l}$	10(58,8%)	7(41,2%)	

PR=1,242, CI=0,783-1,970

Pada tabel 8 dengan uji Chi-square menunjukkan tidak ada hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk maupun hari ke-5 berdasarkan kategori normal ($\leq 1 \mu\text{mol/l}$) atau lebih tinggi dari normal ($> 1 \mu\text{mol/l}$) dengan keluaran klinis stroke iskemik akut kategori sedang-berat (skor NIHSS ≥ 5) atau kategori ringan (skor NIHSS < 5) pada saat masuk dengan PR=1,242, CI=0,783-1,970 kategori kadar MDA lebih dari normal saat masuk tidak merupakan risiko mempunyai keluaran klinis sedang-berat saat masuk.

Tabel .9. Hubungan antara kategori kadar MDA hari ke-5 dengan kategori berat-ringannya keluaran klinis awitan hari ke-5 menggunakan uji Chi-square

Kategori kadar MDA hari ke-5	Berat-ringannya keluaran klinis hari ke-5		$p^*)$
	Sedang – Berat (skor NIHSS ≥ 5)	Ringan (skor NIHSS < 5)	
$> 1 \mu\text{mol/l}$	4 (44,4%)	5 (55,6%)	0,937
$\leq 1 \mu\text{mol/l}$	18 (52,9%)	16 (47,1%)	

PR=0,840, CI=0,379-1,861

Pada tabel 9 dengan uji Chi-Square menunjukkan tidak ada hubungan antara kategori kadar MDA saat masuk maupun hari ke-5 berdasarkan kategori normal ($\leq 1 \mu\text{mol/l}$) atau lebih tinggi dari normal ($> 1 \mu\text{mol/l}$) dengan keluaran klinis stroke iskemik akut kategori sedang-berat (skor NIHSS ≥ 5) atau kategori ringan (skor NIHSS < 5) pada hari ke-5 perawatan dengan PR=0,840, CI=0,379-1,861 kategori kadar MDA lebih dari normal hari ke-5 tidak merupakan risiko mempunyai keluaran klinis sedang-berat hari ke-5.

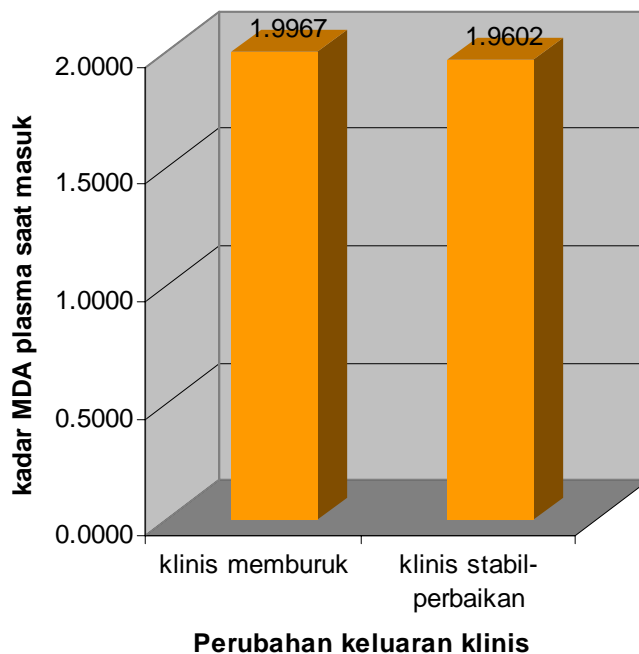
Pada tabel 7 dan tabel 9 pada kolom keluaran klinis sedang - berat mempunyai jumlah total yang sama sebanyak 22 penderita. Pada tabel 7 adanya kadar MDA saat masuk sebagai faktor risiko (kadar MDA $> 1 \mu\text{mol/l}$) atau bukan faktor risiko (kadar MDA $\leq 1 \mu\text{mol/l}$) timbulnya keluaran klinis sedang-berat dapat terjadi pada 22 (51%) penderita. Pada tabel 9 menunjukkan kadar MDA lebih dari normal atau normal akan mempunyai peluang keluaran klinis sedang-berat pada 22 (51%) penderita. Hal ini menunjukkan kejadian kategori keluaran klinis (ringan atau sedang-berat) mempunyai proporsi yang hampir sama dihubungkan dengan kategori kadar MDA (normal atau lebih normal) dan sesuai hasil analisa statistik yang menunjukkan tidak adanya hubungan..

4.6. Perbedaan kadar MDA saat masuk dengan keluaran klinis yang memburuk dan klinis stabil – perbaikan .

Penderita dengan keluaran klinis yang memburuk dengan adanya peningkatan jumlah skor NIHSS ≥ 1 pada hari ke-5 dibanding pada saat masuk adalah sebanyak 3

orang (6,98 %), sedangkan penderita dengan keluaran klinis yang stabil atau membaik dengan jumlah skor NIHSS tetap atau menurun pada hari ke-5 dibanding pada saat masuk adalah sebanyak 40 orang(93,12 %).

Pada Gambar.14. dengan uji Mann-Whitney tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar MDA saat masuk dengan keluaran klinis yang memburuk atau yang stabil-perbaikan ($p=0,325$).



Gambar.14. Perbedaan kadar MDA pada penderita keluaran klinis yang memburuk dengan yang stabil-perbaikan.

BAB 5

PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian pada 43 penderita stroke iskemik akut. Subyek penelitian terdiri atas pria sebanyak 30 orang (69,8%) dan wanita sebanyak 13 orang (30,2%). Rerata umur penderita stroke iskemik akut adalah 60,5 (\pm 10,65) tahun, umur termuda adalah 38 tahun dan tertua adalah 77 tahun. Pada penelitian ini stroke iskemik lebih banyak didapatkan pada pria dan usia rata-rata terjadinya pada usia lanjut (60,5 tahun). Hasil penelitian sebelumnya, dimana risiko stroke bertambah dengan bertambahnya umur, risiko stroke meningkat dua kali tiap dekade setelah umur 55 tahun. Prevalensi stroke dari data yang didapat dari hasil penelitian sebelumnya juga didapatkan lebih tinggi pada pria dari pada wanita, dengan pengecualian pada umur 35 - 44 tahun dan umur lebih 85 tahun lebih banyak didapatkan pada wanita.⁷⁵

Pada penelitian ini diantara faktor risiko yang didapatkan (hipertensi, DM, penyakit jantung, perokok dan dislipidemi), hipertensi merupakan faktor resiko yang paling banyak didapatkan. Faktor risiko tunggal hipertensi terdapat pada 25 penderita (58,14%), dari seluruh penderita didapatkan pada 38 penderita (88,37%). Hipertensi dari berbagai literatur dikatakan memang merupakan faktor risiko vaskuler yang paling banyak didapatkan pada penderita stroke baik yang berdiri sendiri maupun yang bergabung dengan faktor risiko lain. Studi epidemiologi di Toronto

menyimpulkan bahwa, hipertensi meningkatkan risiko terjadinya stroke 3 kali lipat dibanding faktor risiko lain, dan akan meningkat menjadi 9 kali lipat berkombinasi dengan DM dan hiperkolesterolemia.^{64, 76} Hipertensi, perokok, DM, penyakit jantung dan dislipidemi disamping sebagai faktor risiko stroke, pada literatur sebelumnya penyakit atau faktor risiko tersebut juga didapatkan adanya peningkatan kadar MDA di banding kontrol.^{41,42}

Penilaian asupan vitamin C dan E sebelum stroke menggunakan metode *food frequency questionnarre* (FFQ) dan setelah stroke menggunakan *dietary intake* (diet harian). Dua metode yang kami gunakan merupakan metode yang bersifat semikuantitatif. Berbagai penelitian menunjukkan korelasi antara asupan sayuran dan buah - buahan dengan kadar plasma antioksidan (asam askorbat, betakarotene) dan biomarker (isoprostan, MDA). Peningkatan konsumsi buah-buahan berhubungan dengan peningkatan kadar plasma vitamin C 4,9 μ mol/l menggunakan diet harian dan meningkatkan 2,6 μ mol/l menggunakan FFQ. Konsumsi sayuran dilaporkan menggunakan FFQ lebih 2 kali lipat dibandingkan diet harian, begitu pula dengan konsumsi buah-buahan dilaporkan lebih tinggi menggunakan FFQ.^{77,78}

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar vitamin C 147,5 mg menggunakan FFQ (sebelum stroke) dan 60,4 mg menggunakan diet harian (setelah stroke). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa yang dilaporkan menggunakan FFQ lebih besar daripada diet harian. Asupan vitamin C tersebut diatas masih dalam batas yang dianjurkan sebesar 30 – 100 mg perhari. Rerata asupan vitamin E sebelum

stroke menggunakan FFQ 1,51 IU dan setelah stroke menggunakan diet harian sebesar 1,41 IU. Hasilnya lebih rendah dari diet harian vitamin E yang dianjurkan sebesar 7 – 11 IU.

Rerata kadar MDA plasma pada kurang dari 48 jam awitan stroke adalah $1,963 \pm 1,6580 \mu\text{mol/l}$, dengan nilai minimal $0,15 \mu\text{mol/l}$ dan nilai maksimal $5,94 \mu\text{mol/l}$. Sedangkan rerata kadar MDA plasma hari ke -5 adalah $0,843 \pm 0,8783 \mu\text{mol/l}$, dengan nilai minimal $0,09 \mu\text{mol/l}$ dan nilai maksimal $3,55 \mu\text{mol/l}$. Hasil uji Wilcoxon didapatkan perbedaan bermakna kadar MDA saat masuk dan hari ke-5 ($p < 0,001$). Jika dibandingkan dengan harga normal MDA sebesar $1,04 \pm 0,43 \mu\text{mol/l}$, rerata kadar MDA plasma awitan kurang dari 48 jam mempunyai kadar lebih tinggi dari normal. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, bahwa kadar MDA plasma penderita stroke iskemik akut dalam 48 jam awitan stroke lebih tinggi dari normal dan berbeda bermakna dibanding kontrol.^{20 – 22} Sedangkan kadar MDA plasma pada hari ke-5 mempunyai rerata dalam batas normal, hal ini sesuai dengan penurunan aktifitas stres oksidatif pada hari ke-5. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dengan melihat aktifitas stres oksidatif dengan pemeriksaan kadar SOD secara serial didapatkan kadarnya kembali dalam level normal pada hari ke-5.¹⁹

Perbedaan tersebut terjadi karena pada penyakit stroke iskemik akut dengan adanya peningkatan ion kalsium di dalam sel akan memicu produksi enzim fosfolifase dan enzim ini akan menghidrolisis fosfolipid membran dan terbentuk asam arakhidonat. Sumber utama radikal bebas yang timbul lambat pada saat reperfusi

adalah metabolisme asam arakhidonat yang terakumulasi selama iskemia otak oleh enzim siklooksigenase dan lipooksigenase yang terjadi 6 – 48 jam awitan stroke iskemik akut dan akan menghasilkan superoksida^{10,11} Sumber potensial lain adalah produksi iNOS yang terjadi 1 – 2 hari setelah iskemia fokal otak.³⁸ Pada penelitian lain didapatkan iNOS dapat terdeteksi 12 jam setelah iskemia otak, mencapai kadar puncak pada 48 jam dan akan kembali ke *baseline* memerlukan waktu sekitar 7 hari.³⁹ Nitrit oksida yang terbentuk akan bereaksi dengan superoksida membentuk peroksinitrit, kemudian peroksinitrit akan mengalami perubahan dan terbentuk radikal hidroksi. Superoksida dan radikal hidroksi akan bereaksi dengan PUFA dalam hal ini yang banyak dihasilkan selama iskemia otak adalah asam arakhidonat melalui rangkaian reaksi yang disebut dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid ini akan menghasilkan produk akhir yang lebih stabil, salah satu diantaranya adalah MDA yang merupakan hasil utama peroksidasi lipid. Dengan hal tersebut diatas kadar MDA akan meningkat dalam 2 hari awitan stroke dan kemudian kadarnya akan mengalami penurunan.

Rerata skor NIHSS pada saat masuk adalah $7,21 \pm 3,979$ dengan minimal 2 dan nilai maksimal 15. Rerata skor NIHSS pada awitan hari ke-5 $5,86 \pm 4,518$ dengan nilai minimal 0 dan nilai maksimal 17. Terdapat perbedaan bermakna rerata skor NIHSS antara saat masuk dan hari ke-5 dengan uji Wilcoxon ($p < 0,0001$). Terlihat skor NIHSS mengalami penurunan, hal ini menunjukkan adanya perbaikan klinis pada sebagian besar penderita pada hari ke-5 awitan stroke dibanding sebelumnya.

Hubungan kadar MDA plasma dengan skor NIHSS saat masuk dan antara kadar MDA saat masuk dan skor NIHSS hari ke-5 menunjukkan hubungan searah sangat lemah. Hal ini menunjukkan, terdapat kecenderungan meningkatnya kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, di mana peroksidasi lipid dapat menyebabkan kematian sel akan menyebabkan klinis lebih buruk yang dapat diukur dengan peningkatan skor NIHSS. Namun demikian, hubungan yang didapatkan pada penelitian ini sangat lemah.

Hubungan kadar MDA dengan kesadaran (skor GCS) menunjukkan hubungan terbalik, dimana hal ini sesuai dengan penelitian Aygul, Kotan, Demirbas, Ulvi, Deniz (2006) dimana pada kadar MDA yang lebih tinggi didapatkan skor GCS(*Glasgow coma scale*), tetapi pada penelitian ini didapatkan hubungan yang sangat lemah.⁶

Perbedaan kadar MDA saat masuk dihubungkan dengan keluaran klinis yang memburuk atau yang stabil-perbaikan tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Penelitian Polidori, Cherubini, Sthal, Senin, Sies, Mecocci (2002)²⁴ Kadar plasma MDA lebih rendah secara bermakna pada grup S (*stabil* / klinis stabil atau perbaikan) dibanding pada grup W (*worse* / klinis memburuk) dinilai menggunakan skor Barthel Index saat masuk dan 1minggu awitan stroke. Perbedaan ini disebabkan penelitian oleh Polidori dkk. dilakukan pada penderita dengan usia > 65 tahun(geriatri), dimana radikal bebas lebih tinggi didapatkan pada penderita usia lanjut dibanding dengan usia yang lebih muda.

Berdasarkan kategori kadar MDA normal atau lebih dari normal dengan kategori skor NIHSS ringan atau sedang-berat, baik pada hari awitan kurang 48 jam dan hari ke-5 tidak didapatkan hubungan dengan $RR = 1,144$, interval kepercayaan $0,617 - 2,121$, kadar MDA lebih dari normal saat masuk bukan merupakan risiko untuk terjadinya keluaran klinis sedang – berat pada awitan hari ke-5..

Tidak terdapatnya hubungan antara kadar MDA dengan keluaran klinis tersebut diatas disebabkan adanya stres oksidatif tidak selalu mengakibatkan kematian sel. Akibat stres oksidatif dapat terjadi adaptasi sel dengan adanya sistem ketahanan sel, yang kedua terjadinya kerusakan sel (*cell injury*), di mana dapat terjadi penggantian molekul yang mengalami kerusakan atau tetap hidup dengan kerusakan yang menetap.³⁴

Penelitian mengenai lazarooids termasuk dalam golongan steroid non glukokortikod 21- aminosteroid yang bekerja sebagai anti peroksidasi lipid melalui 2 mekanisme yang pertama sebagai pembasmi radikal peroksi dan stabilisasi membran dengan bergabungnya dengan *lipid bilayer membrane* dengan cara interaksi antara piperazine nitrogen dari lazarooid dengan grup fosfat membran sehingga mengurangi interaksi radikal peroksi. Pada beberapa penelitian binatang pemberian lazarooid secara bermakna dibanding kontrol dapat mengurangi volume infark, terbentuknya udem, produk peroksidasi lipid dan asam arakhidonat. Terdapat hasil yang berbeda pada 2 penelitian klinis, dimana pemberian lazarooids pada penderita stroke tidak

mempunyai efek positif pada GCS dan Index Barthel, serta tidak secara bermakna mengurangi kematian.^{79,80}

Kadar MDA sendiri sebagai petanda biologis stres oksidatif tidak langsung dengan mengukur proses peroksidasi lipid yang terjadi pada penderita stroke iskemik akut. Efek sitotoksik pada kultur sel dibandingkan dengan kelompok aldehid yang lain, MDA mempunyai toksisitas yang lemah. Dengan demikian kadar MDA dapat menilai peroksidasi lipid yang terjadi dalam tubuh, tetapi hubungan akan terjadinya kematian sel secara tidak langsung dengan menilai aktifitas peroksidasi lipid.⁵³

Dengan demikian penting untuk diketahui kerusakan sekunder selama iskemia dan reperfusi terjadi akibat berbagai faktor, kerusakan membran sel akibat peroksidasi lipid hanya salah satu mekanisme patofisiologi yang terjadi, tidak cukup data menunjukkan suatu kesimpulan bahwa mekanisme peroksidasi lipid suatu yang krusial menentukan keluaran klinis.^{43,79} Berbagai faktor yang lain yang berperan dengan adanya iskemia kaskade pada penyakit stroke iskemik akut seperti peningkatan glutamat, peningkatan aktifitas enzim endonuklease, protease, fosfolipase, asidosis sel dan jaringan, peningkatan inflamasi dengan diproduksi sitokin proinflamasi, migrasi leukosit, disfungsi endotel juga berperan pada kerusakan dan kematian sel otak serta proses apoptosis yang terutama terjadi akibat induksi pelepasan sitokrom c di mitokondria. Luasnya volume infark, lokasi lesi juga merupakan faktor yang berperan dalam menentukan keluaran klinis penderita stroke iskemik akut.

BAB 6

SIMPULAN DAN SARAN

6.1. Simpulan

1. Terdapat hubungan searah sangat lemah antara kadar MDA plasma darah tepi dengan skor NIHSS saat masuk dan hubungan terbalik sangat lemah pada hari ke-5 awitan stroke.
2. Kadar MDA plasma darah tepi saat masuk bukan merupakan risiko terhadap keluaran klinis yang lebih buruk pada hari ke-5.

6.2. Saran

1. Dengan hasil penelitian ini, kadar MDA plasma belum dapat kami anjurkan untuk digunakan menilai keluaran klinis penderita stroke iskemik akut.
3. Penelitian lain yang serupa dengan menilai volume infark dan lokasi lesi yang tidak dilakukan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brott T, Bogousslavsky J. Treatment of acute ischemic stroke. *The New England Medical Journal* 2000 ; 343 : 710 – 22.
2. Kelompok studi serebrovaskuler dan neurogeriatri PERDOSSI. Konsensus nasional pengelolaan stroke di Indonesia. Jakarta, 1999 : 1 – 9.
3. Cherubini A, Polidori C, Bedetti C, Ercolani S, Senin U, Mecocci P. Association between ischemic stroke and increased oxidative stress. Perugia 1999.
4. Gan R, Sacco RL, Gu Q, Kargman D, Roberts J, Boden alibaba B. Lacunes, lacunar syndromes and the lacunar hypothesis : the northern manhattan stroke study experience. *Neurology* 1997; 48 : 1204 – 11.
5. Husada J. Acute ischemic stroke role of neuropeptides in neuroprotection. Surabaya. Pendidikan kedokteran berkelanjutan .2004.
6. Aygul R, Kotan D, Demirbas F, Ulvi H, Deniz O. Plasma oxidant and antioxidant in acute ischemic stroke. *The journal of international medical research*. 2006 ; 34 : 413 – 18.
7. Gusev E, Skvortsova V I. Brain Ischemia. 1st ed. New York : kluwer Academic / Plenum Publisher, 2003 : 1 – 72.
8. Traystman RJ, Kirsch JR, Koehler RC. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J. Appl. Physiol.* 1991; 71 : 1185 – 95.
9. Chan PH, Role of oxidant in ischemic brain damage. *Stroke* 1996 ; 27 : 1124 – 29.
10. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiological Review* 1999 ; 79 : 1431 – 1516.
11. Budiarto G. Patofisiologi dan manajemen stroke iskemik. Dalam : Pendidikan kedokteran berkelanjutan V update on neurology. Surabaya. 2001.
12. Droge W. Free radical in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002 ; 82 : 47 – 95.

13. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system, source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991 ; 91 : 14 – 21.
14. Kontos HA. Oxygen radicals in cerebral ischemia : The 2001 willis lecture. *Stroke* 2001 ; 32 : 2712 – 16.
15. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potensial marker of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med*. 2005 ; 39 : 841 – 52.
16. Donne D, Isabella, Rossi, Ranieri, Colombo, Roberto dkk. Biomarker of oxidative damaged in human disease. *Clinical Chemistry* 2006 ; 52 : 1 – 23.
17. Kadiiska MB, Gladen BC, Bairrd DD, Germolec D, Graham LB, Parker CE,etc. hBiomarkers oxidative stress study II : are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl4 poisoning?. *Free Radic Biol Med* 2005 ; 38 (6) : 698-710.
18. Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre JL. Analysis free radical in biological systems. Birkhauser Verlag. Deutsche Bibliothek Cataloging-in-Publication Data. 1995.
19. Spranger M, Krempien S, Schwab S, Donneberg S, Hacke W. Superoxide dismutase activity in serum of patients with acute cerebral ischemic injury. *Stroke*, 1997; 28 : 2425 – 28.
20. Sharp PC, Mulholland C, Trinick T. Ascorbat and malondialdehyde in stroke patients. *Ir J Med Sci* 1994 ; 163 : 488 – 91.
21. Belch J, McLaren M, Hanslip J, Hill A, Davidson D. The white blood cell and plasma fibrinogen in thrombotic stroke, a significant correlation. *Int Angiol* 1998 ; 17 : 120 – 4.
22. El Kossi MMH, Zakhary MM. Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke. *Stroke* 2000 ; 31: 1889 – 92.
23. Yang TH, Chang CY, Hu ML. Various from of homocystein and oxidative status in the plasma of ischemic stroke patients as compare to healthy controls. *Clin Biochem* 2004 ; 37 : 494 – 9.
24. Polidori MC, Cherubini A, Sthal W, Senin U, Sies H, Mecocci P. Plasma carotenoid and malondialdehyde levels in ischemic stroke patients : Relationship to early outcome. *Free Radical Research*, 2002; 36 : 265 – 68.

25. Santos MT, Valles J, Aznar J, Vilches J. Determinations of plasma malondialdehyde-like material and its clinical applications in stroke patients. *J Clin Pathol* 1980; 33: 973 – 76.
26. Azzimondi G, Lanzarini C, Bassein L, Vaona I, Guarnieri C. Plasma lipoperoxidative markers in ischemic stroke suggest brain embolism. *Eur J Emerg Med*, 1997; 4 : 5 – 9.
27. Graham SH, Hickey RW. Molecular pathophysiology of stroke. *Neuro psychopharmacology* 2002; 92 :1317 – 26.
28. Susilowati S, Dahlan J, Haryana SM. Post acute stroke : The biomolecular aspect. Dalam : Temu regional neurology Jateng-DIY ke XIX. Semarang. 2002.
29. Kustiowati E. Trombosis di bidang Neurologi : Stroke iskemik. Bagian Neurologi Universitas Diponegoro, Semarang. 2003.
30. Smith WS. Pathophysiology of focal cerebral ischemia : Therapeutic perspective. *J Vasc Interv Radiol* 2004 ; 15 : 3 – 12.
31. Arzumanyan V, Stankevicius E, Laukeviciene A, Kevelaitis E. Mechanism of nitric oxide synthesis and action in cells. *Medicina*, 2003; 39 : 535 – 41.
32. Guzik TJ, Korbust R, Guzik TA. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2003 ; 54 : 469 – 87.
33. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases : structure, function and inhibition. *Biochem J*, 2001; 357 : 593 – 615.
34. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases the role of oxidant stress. *Circ Res*, 2000; 87 : 840 – 44.
35. Chan PH, Role of oxidant in ischemic brain damage. *Stroke* 1996 ; 27 : 1124 – 29.
36. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995 ; 41 : 1819 – 28.
37. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean. *British journal of Pharmacology* 2004 ; 142 : 231 – 55.

38. O'Mahoney D, Kendall MJ. Nitric oxide in acute ischaemic stroke : a target for neuroprotection. *J.Neurol.Neurosurg. Psychiatry*,1999 ; 67 : 1 – 3.
39. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2005 ; 25 : 29 – 38.
40. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Phospholipase A2, Hydroxyl radicals, and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia. *Antioxid. Redox signal* 2003 ; 5 : 647 – 54.
41. Iadecola C, Zhang F, Xu s. Inducible nitric oxide synthase gene expression in brain following cerebral ischemia. *J.Cereb Blood Flow Metab*, 1995; 15 : 37 – 69.
42. Sudomo H. Aspek klinis dan diagnostic stroke. Dalam : pengelolaan stroke masa kini. Semarang. 1999.
43. Young IS, Woodside JV. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, 2001; 54 : 176 – 86.
44. Walter MF, Jacob RF, Jeffers B, Ghadanfar MM, Preston GM, Buch J, Mason RR. Serum level of thiobarbitusic acid reactive substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease : A longitudinal analysis of the PREVENT study. *J.Am.Coll. Cardiol* 2004 ; 44 ; 1996 – 2002.
45. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B etc. Factor associated with oxidative stress in human populations. *Am J Epidemiol* 2002 ; 156 : 274 – 85.
46. Warner DS, Sheng H, Harbele IB. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *The journal of experimental biology* 2004 ; 207 : 3221 - 31.
47. Weigand MA, Laipple A, Plaschke K, Eckstein HH, Martin E, Bardenheuer HJ. Concentration changes of malondialdehyde across the cerebral vascular bed and shedding of L- selectin during carotid endarterectomy. *Stroke* 1999 ; 30 : 306-11.
48. Adibhatla RM, Hatcher JF. Phospholipase A2, reactive oxygen species and lipid peroxidation in cerebral ischemia. *Free Radical Biology* 2006 ; 40 : 376 – 87.
49. Beckman JS, Ye YZ, Chen J, Conger KA. The interactions of nitric oxide with oxygen radicals and scavenger in cerebral ischemic injury. In : Siesjo

- BK. Editors. Advanced in neurology : celluler and moleculer mechanism of ischemic brain damage. Philadelphia : Lippincoat-Raven publishers ; 1996 : 339 – 45.
50. Gunnet CA, Lund DD, McDowell AK, Faraci FM, Heistad DD. Mechanism of inducible nitric oxide synthase - mediated vascular dysfunction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2005 ; 25 : 1617 – 22.
 51. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*, 2007; 87: 315 – 424.
 52. Elkind MS, Brown D. Genetic and inflammatory mechanism in stroke. www.e.medicine.com.2006
 53. Traber MG, Jacob RA. Modern nutrition in health and disease. 9th ed. Baltimore : Lippincot Williams & Wilkins, 1999 : 347 – 60.
 54. Combs GF. The vitamin , fundamental aspects in nutrition and health. 2nd ed. New York : Academic Press, 1998 : 245 – 69.
 55. Burcham PC. Genotoxic lipid peroxidation products : their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis* 1998, 13 : 287 – 305.
 56. Salvayre AN, Coatrieux C, Ingueneau C, Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potensial role in disease and therapeutic prospects for the inhibitors. *British Journal of Pharmacology* 2008, 153 : 6 – 20.
 57. Esterbauer H. Cytotoxicity ang genotoxicity of lipid peroxidation products. *Am J Clin Nutr* 1993, 57 : 779 – 86.
 58. Requena JR, Xin Fu M, Ahmed MU, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW, Thorpe SR. Quantification of malondialdehyde and 4-hydroxynonenal adducts to lysine residues in native and oxidized human low density lipoprotein. *Biochem* 1997 ; 32 : 317 – 25.
 59. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress : references interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry* 1997 ; 43 : 1209 – 14.

60. Lima VR, Morfim MP, Teixeira A, Crecszynski TB. Relationship between the action of reactive oxygen and nitrogen species on bilayer membranes and antioxidants. *Chemistry and Physics of Lipids* 2004 ; 132 : 197 – 208.
61. Janero D. Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free. Rad. Biol.Med* 1990 ; 9 : 515 – 40.
62. Yang CS, Tsai PJ, Lin NN, Kuo JS. Elevated extracellular glutamate concentrations increased malondialdehyde production in anesthetized rat brain cortex. *Neuroscience* 1998 ; 243 : 33 – 36.
63. Baskol M, Baskol G, DenizK, Ozbakir O, Yucesoy M. A new marker for lipid peroxidation : serum paraoxonase activity in non alcoholic steatohepatitis. *Turk J Gastroenterol* 2005 ; 16 : 119 – 23.
64. Sandra E, Moser J, Bagchi D, Akubue PI, Stohs SJ. Excretion of malondialdehyde, formaldehyde, acetaldehyde dan acetone in the urine of rats following acute and chronic administration of ethanol. [www medical council on alcohol](http://www.medicalcouncil.org.uk/ethanol/ethanol.htm) 2007
65. Duncan PW, Jorgensen HS, Wade DT. Outcome measure in acut stroke trial : A systematic review and some recommendation to improve practice. *Stroke* 2000 ; 31 : 1429 – 38.
66. Hayes MK, Robertson JT, Broderick JP, Duncan PM, Hersey LA, Roth EJ, etc. The american heart assosiation. Stroke outcome classification. *Stroke* 1998 ; 29 : 1247 – 80.
67. Schlegel D. Kolb SJ. Luciano JM, Tovar JM, Cucchiara BL, Liebeskind DS, etc. Utility opf NIH Stroke scale as apredictor of hospital disposition. *Stroke* 2003 ; 34 : 134 – 37.
68. Victor M, Ropper AH. Principles of neurology. 7th ed. New York : McGraw Hill ; 2001; 821 – 924.
69. Braid A E, Dambrosia J, Janket S, Eichbaum Q, Chaves C, Silver B. A three item scale for the early prediction of stroke recovery. *The Lancet*: 2001 ; 357 : 2095 –99.
70. Saver JL , Johnston KC, Homer D, Wityk R, Koroshetz W, Truskowski LL etc. Infarct volume as asurrogate or auxillary outcome measure in ischemics stroke clinical trials. *Stroke*, 1999;30 : 293 – 98.

71. Johnston KC, Wagner DP, Haley EC, Connors AF. Combined clinical and imaging information as an early stroke outcome measure. *Stroke*, 2002; 33 : 466 – 72.
72. Fink JN, Selim MH, Kumar S, Silver B, Linfante I, Caplan LR etc. Is the Association of National Institutes of Health Stroke Scale Scores and Acute Magnetic Resonance Imaging Stroke Volume Equal for Patients With Right- and Left-Hemisphere Ischemic Stroke?. *Stroke*, 2002 ; 33: 954 - 58.
73. Fischer U, Arnold M, Nedeltchev K, Brekenfeld C, Ballinari P, Remonda L etc. NIHSS Score and Arteriographic Findings in Acute Ischemic Stroke . *Stroke*, 2005; 36: 2121 - 25
74. Jozwik M, Wolezynski S, Szamatowicz M. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Molecular human reproduction*, 1999; 5 : 409 – 13.
75. Goldstein LB, Adams R, Albert MJ, Appel LJ, Brass LM Bushnell CD. Primary prevention of ischemic stroke. *Stroke*, 2006; 37: 1583 – 1633.
76. Gilroy J. *Basic Neurology*. 3rd ed. New York : The Mc Graw Hill Companies Inc. 2000 : 225 – 77.
77. Bogers RP, Assema PV, Kester AD, Westerterp KR, Dagnelle PC. Reproducibility, validity dan responsiveness to change of a short questionnaire for measuring fruit and vegetable intake. *Am J Epidemiol*, 2004; 159 : 900 – 9.
78. Michels KB, Welch AA, Luben R, Bingham SA, Day NE. Measurement of fruit and vegetable consumption with diet questionnaire and implications for analyses and interpretation. *Am J Epidemiol*, 2005; 161: 987 – 94.
79. Kavanaugh RJ, Kam PCA. Lazaroids : efficacy and mechanism of action of the 21-aminosteroid in neuroprotection. *Br.J Anaesth* 2001; 86 : 110 – 19.
80. Trilazad International Stering Commmittee . Trilazad meyslate in acute ischemic stroke. A Systematic review. *Stroke*, 2000; 32 : 2257 – 65)
81. Mahmud MK, Hermana, Zulfianto NA, Rozanna R, Ngadiarti I, Hartati B. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Persatuan Ahli Gizi Indonesia, Jakarta, 2005.

82. National Health and Medical Research Council Australia. Vitamin E Recommended Daily Intake [http://www.medicalonline.com.au / medical / nutrition /RDI/htm](http://www.medicalonline.com.au/medical/nutrition/RDI/htm). 1997
83. Supariasa DW, Bakri B, Fajar I. Penilaian Status Gizi. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2001 : 88 – 103.

ETHICAL CLEARANCE

PERSETUJUAN PENELITIAN

PERSETUJUAN PENELITIAN

Tanggal pengisian :

DAFTAR PERTANYAAN DAN PEMERIKSAAN

Hubungan kadar MDA plasma dengan keluaran stroke iskemik akut

No	PERTANYAAN	JAWABAN
IDENTITAS		
1.	No. Penelitian	
2.	Nama :	Tidak dikode
3.	Alamat :	Tidak dikode
4.	No.CM :	
5.	Tanggal masuk RS :	
6.	Jam masuk RS :	
7.	Jemis kelamin : 1. Laki-laki 2. Perempuan	
8.	Umur(tahun) :	
9.	Status perkawinan : 1. Kawin 2. Janda/duda 3. Tidak kawin	
10.	Pendidikan : 1. SD 2. SLTP 3. SLTA 4. Universitas 5. Tidak sekolah	
11.	Pekerjaan : 1. Pensiunan/PNS/TNI-ABRI 2. Wiraswasta 3. Pedagang 4. Buruh / Tani 5. Tidak bekerja	
ANANMESIS		
12.	Keluhan utama :	Tidak dikode
13.	Jam serangan :	
14.	Tanggal pemeriksaan :	
15.	Onset saat pemeriksaan : 1. Kurang 24 jam 2. 24 – 48 jam	
16.	Riwayat faktor resiko stroke : 1. Hipertensi 2. DM 3. Perokok	

	4. Jantung	
17.	Riwayat stroke sebelumnya : 1. Ya 2. Tidak	
18.	Riwayat panas badan dalam 1 minggu sebelum stroke : 1. Ya 2. Tidak	
19.	Riwayat nyeri dada dibagian kiri atau disertai nyeri menjalar ke punggung kiri atau lengan kiri, sesak nafas terutama saat aktifitas, atau pernah dinyatakan menderita penyakit jantung oleh dokter: 1. Ya 2. Tidak	
20.	Riwayat merokok 1 tahun terakhir : 1. Tidak pernah 2. Kurang dari 20 batang perhari 3. 20 batang atau lebih perhari	
21.	Riwayat sakit asma : 1. Ya 2. Tidak	
22.	Riwayat kelainan kulit dengan lesi kecil (1 – 8 inchi) kemerahan dengan bercak putih diatasnya, simetris dikedua sisi tubuh atau terdapat tanda auspitz atau pernah dinyatakan menderita psoriasis oleh dokter : 1. Ya 2. Tidak	
23.	Riwayat bercak kemerahan (rash) diwajah dikedua sisi, kulit sensitif terhadap cahaya matahari, luka (ulkus) dimulut, arthritis (radang sendi) atau pernah dinyatakan menderita penyakit lupus oleh dokter : 1. Ya 2. Tidak	
24.	Riwayat radang ≥ 3 sendi, simetris, kaku sendi pagi hari, radang sendi di jari, terdapat nodul rheumatoid atau dinyatakan dokter menderita penyakit "rheumatoid arthritis" : 1. Ya 2. Tidak	
PEMERIKSAAN FISIK		
25.	Glasgow coma scale : E M V	
26.	Tekanan darah : Sistolik : Diastolik :	
27.	Nadi (x/menit) :	
28.	Suhu ($^{\circ}\text{C}$) :	

29.	Pernafasan (x/menit) :	
30.	Jantung : 1. Normal 2. Tidak normal Kelainan :	
31.	Paru : 1. Normal 2. Tidak normal Kelainan :	
32.	Kulit : 1. Normal 2. Tidak normal Kelainan :	
33.	Sendi : 1. Normal 2. Tidak normal Kelainan :	
PEMERIKSAAN EKG		
34.	1. Normal 2. Tidak normal : Kelainan :	
PEMERIKSAAN CT SCAN KEPALA		
35.	Tanggal pemeriksaan :	
36.	Waktu antara awitan – pemeriksaan (jam) :	
37.	Kategori lokasi 1. Kortikal 2. Sub kortikal 3. Campuran 4. Batang otak 5. Tidak tampak Infark/SOL/Perdarahan	
PEMERIKSAAN FUNDUSKOPI		
38.	1. Retinopati hipertensi (+) 2. Retinopati diabetik (+) 3. Papil udem (+) 3. Tidak didapatkan kelainan Kelainan lain :	
PEMERIKSAAN LABORATORIUM		
39.	Jumlah leukosit ($\times 100/\text{mm}^3$) :	
40.	Kadar HB (gr%) :	
41.	Nilai hematokrit (gr%) :	
42.	Kadar gula darah 1. Sewaktu : 2. Puasa :	
43.	Kadar lipid darah 1. Kolesterol (mg %) 2. Trigliserida. (mg %) 3. LDL (mg %)	
44.	Kadar Mda (mmol/ml) : 1. < 48 jam onset : 2. Hari ke 5 :	
ASUPAN VITAMIN C DAN E :		
45.	Sebelum stroke : 1. Kadar vitamin C (mg/hr)	

	2. Kadar vitamin E (IU/hr)	
46.	Setelah Stroke : 1. Kadar vitamin C (mg/hr) 2. Kadar vitamin E (IU/hr)	
PEMERIKSAAN SKOR NIHSS		
47.	Nilai skor NIHSS : 1. < 48 jam onset 2. Hari ke 5	
FOLLOWUP SELAMA PERAWATAN		
48.	Dropout dengan alasan :	Tidak dikode

National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)⁶⁵

NIHSS		Skor
1a.	Derajat kesadaran 0 = sadar penuh 1 = somnolen 2 = stupor 3 = koma	
1b.	Menjawab pertanyaan 0 = dapat menjawab dua pertanyaan dengan benar (misalnya bulan apa sekarang dan usia pasien) 1 = hanya dapat menjawab satu pertanyaan dengan benar / tidak dapat berbicara karena terpasang pipa endotracheal atau disartria 2 = tidak dapat melakukan kedua perintah dengan benar / afasia / stupor	
1c.	Mengikuti perintah 0 = dapat melakukan dua perintah dengan benar (misalnya buka dan tutup mata, kepal dan buka tangan pada sisi yang sehat) 1 = hanya dapat melakukan satu perintah dengan benar 2 = tidak dapat melakukan kedua perintah dengan benar	
2.	Gerakan mata konyugat horisontal 0 = normal 1 = gerakan abnormal hanya pada satu mata 2 = deviasi konyugat yang kuat atau paresis konyugat total pada kedua mata	
3.	Lapangan pandang pada tes konfrontasi 0 = tidak ada gangguan 1 = kuadranopsia 2 = hemianopsia total 3 = hemianopsia bilateral buta kortikal	
4.	Paresis wajah 0 = normal 1 = paresis ringan 2 = paresis parsial 3 = paresis total	
5.	Motorik lengan kanan 0 = tidak ada simpangan bila pasien disuruh mengangkat kedua lengannya selama 10 detik 1 = lengan menyimpang kebawah sebelum 10 detik 2 = lengan terjatuh ke kasur atau badan atau tidak dapat diluruskan secara penuh 3 = tidak dapat melawan grafitasi 4 = tidak ada grafitasi	
6.	Motorik lengan kiri (idem 5)	
7.	Motorik tungkai kanan (idem 5)	
8.	Motorik tungkai kiri (idem 5)	

9.	Ataksia anggota badan 0 = tidak 1 = pada satu ekstremitas 2 = pada dua atau lebih ekstremitas	
10.	Sensorik 0 = normal 1 = defisit parsial 2 = defisit berat	
11.	Bahasa terbaik 0 = tidak ada afasia 1 = afasia ringan – sedang 2 = afasia berat 3 = diam saja	
12.	Disartria 0 = artikulasi normal 1 = disartria ringan – sedang 2 = disartia berat	
13.	Neglect / tidak ada atensi 0 = tidak ada 1 = parsial 2 = total	
Skor total NIHSS		

SURVEI DIET VITAMIN C (SEBELUM STROKE)^{81,83}

Nama responden :

Tanggal _____ :

[illegible]

SURVEI DIET VITAMIN E (SEBELUM STROKE)^{82,83}

Nama responden :

Tanggal _____ :

[illegible]

VITAMIN C SETELAH STROKE

VITAMIN E SETELAH STROKE

Prosedur pemeriksaan kadar malondialdehid

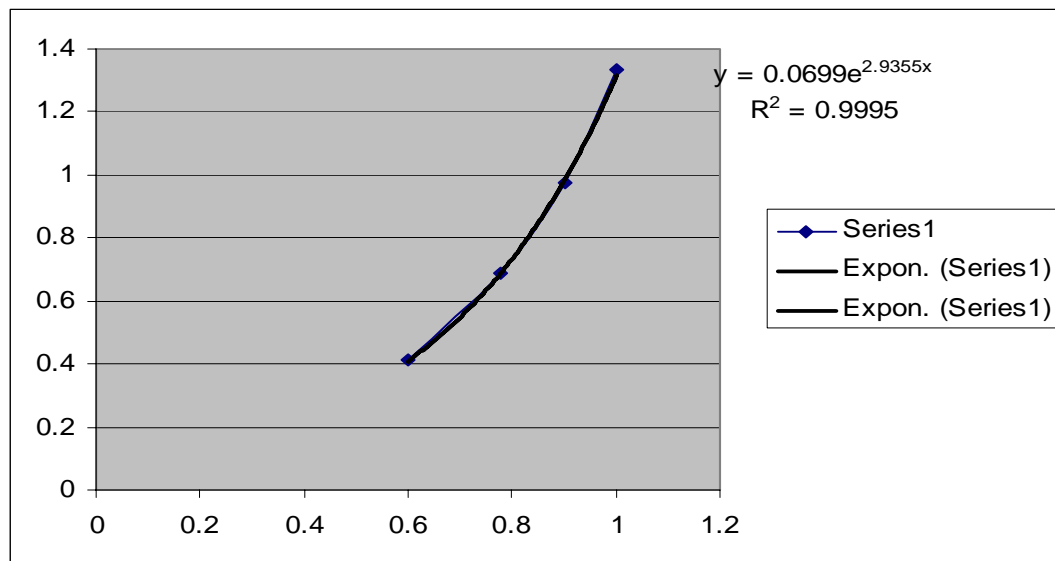
1. Bahan pemeriksaan kadar malondialdehid diambil dari vena mediana cubiti (darah sewaktu) sebanyak 5 cc dan dimasukkan dalam tabung yang berisi EDTA(zat anti pembekuan darah) 0,1 dari 0,47mol/L EDTA, disimpan dalam thermos dengan suhu 5⁰C.
2. Sampel dengan thermos berisi ice pack segera dibawa ke laboratorium Patologi Klinik RSUP. Dr.Kariadi dan segera dipisahkan dengan bekuannya dengan di sentrifuge selama 10 menit dalam putaran 12.000 rpm. Serum disimpan sementara dalam suhu -70⁰ di laboratoium ini sampai dilakukan pemerisaan kadar MDA.
3. Bila sudah mencukupi jumlah sampelnya untuk dikirim, sampel diambil dimasukkan dalam thermos dengan ice pack/gel pack yang sebelumnya dibekukan dalam suhu -70 ⁰C dikirim ke laboratorium Penelitian Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada.
4. Dilakukan pengukuran kadar MDA dengan metode spektrofotometri dengan panjang gelombangnya 532 nm dengan menggunakan cara pemeriksaan Pyles dkk.⁶⁶ dengan menggunakan alat Bioxytech MDA nomor katalog 21044 .

Cara kerja pemeriksaan Kadar malondialdehid :

1. Pembuatan reagen TBA yang terdiri dari :
 - 40,5ml asam asetat + 13,2ml 8,2% SDS + 40,5ml 0,8% TBA
2. 1 cc sampel + 4,0cc reagen TBA diencerkan dengan 100 cc aquades, kemudian diinkubasi pada suhu 900C selama 80 menit, setelah itu didinginkan dalam es .

3. Kemudian di kocok dengan ekstrak butanol 4,0 cc kemudian disentrifugasi pada 3000g selama 15 menit.
4. Kemudian absorbance dibaca dengan mesin spectrophotometer pada gelombang 510, 532 dan 560nm
5. Hasil akhir MDA dinilai menggunakan kurve kalibrasi.

Gambar kurve kalibrasi :



SPSS ANALISA DATA